

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LAÍS KOOP BONILHA

APLICAÇÃO DE OTIMIZAÇÃO DINÂMICA PARA PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DE
ACILGLICERÓIS

CURITIBA

2018

LAÍS KOOP BONILHA

APLICAÇÃO DE OTIMIZAÇÃO DINÂMICA PARA PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DE
ACILGLICERÓIS

Tese submetida ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Departamento de Engenharia Química, Setor de Tecnologia, da Universidade Federal do Paraná como requisito para obtenção do título de Doutora em Engenharia de Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Marcos Lúcio Corazza
Coorientador: Prof. Dr. Fernando Augusto Pedersen Voll

CURITIBA

2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELO SISTEMA DE BIBLIOTECAS/UFPR
BIBLIOTECA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

B715a Bonilha, Laís Koop
 Aplicação de otimização dinâmica para produção enzimática de acilgliceróis / Laís Koop Bonilha.
 – Curitiba, 2018.
 113 p. : il. color.

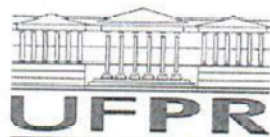
Tese - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, 2018.

Orientador: Marcos Lúcio Corazza.

Coorientador: Fernando Augusto Pedersen Voll.

1. Controle ótimo. 2. Glicerólise. 3. Diacilgliceróis. 4. Monoacilgliceróis. I. Universidade Federal do Paraná. II. Corazza, Marcos Lúcio. III. Voll, Fernando Augusto Pedersen. IV. Título.

CDD: 664.117




MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA DE
ALIMENTOS

TERMO DE APROVAÇÃO

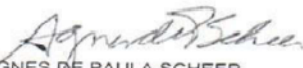
Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ENGENHARIA DE ALIMENTOS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de LAIS KOOP intitulada: Aplicação de Otimização Dinâmica para Produção de Acilgliceróis, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

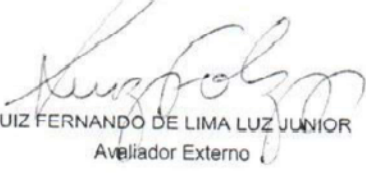
A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 25 de Maio de 2018.


MARCOS LÚCIO CORAZZA
Presidente da Banca Examinadora


ELITON FONTANA
Avaliador Externo


AGNES DE PAULA SCHEER
Avaliador Interno


LUIZ FERNANDO DE LIMA LUZ JUNIOR
Avaliador Externo


ADRIAN BONILLA PETRICIOLET
Avaliador Externo

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, dono de toda ciência, sabedoria e poder, por ter me dado a oportunidade e a capacidade para realizar esse curso de doutorado. Sem Ele a realização deste trabalho não teria sido possível.

Aos professores, Dr. Marcos Lúcio Corazza e Dr. Fernando Augusto Pedersen Voll, por me orientarem ao longo dessa pesquisa, contribuindo com seus conhecimentos e sugestões essenciais para a concretização desse trabalho. Agradeço em especial ao Dr. Marcos L. Corazza por ter depositado confiança em mim e ter me incentivado a fazer o intercâmbio pelo Programa de Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE), que serviu não somente para minha formação profissional, mas também para meu crescimento pessoal.

Ao Dr. Adrián Bonilla Petriciolet, por aceitar orientar-me durante minha estadia no México pelo PDSE, contribuindo com seus conhecimentos para a minha pesquisa, permitindo que eu assistisse à aulas muito enriquecedoras para minha formação profissional, convidando-me para participar como autora no capítulo “*Optimal Control of a Fermentation Process for Xylitol Production Using Differential Evolution*” do livro “*Differential Evolution in Chemical Engineering*” e cuidando para que meu período no México fosse uma experiência muito boa.

Aos professores, Dra. Agnes de Paula Scheer, Dr. Éliton Fontana e Dr. Luiz Fernando de Lima Luz Jr., pelas sugestões de melhorias para esta tese durante o exame de Qualificação e/ou exame de defesa de tese.

Aos meus pais, Egon Koop e Corina Lowen Koop, por me apoiarem durante todo esse período de curso com incentivo, compreensão em períodos mais estressantes e, principalmente, com orações por mim.

Ao meu esposo Aurio Manoel Bonilha Jr., pelo seu amor, carinho, incentivo e paciência, os quais me alegraram durante esse período de curso.

À minha amiga Paloma Souza Cabral, por ter sempre as palavras certas para me incentivar durante a realização da pesquisa.

Às minhas amigas Esther Braun e Cinthia Ferraz e à minha irmã Letícia Koop Redekop pelo apoio e orações por mim.

À Amanda Roman Guedes e à Ariádine Reder Custódio de Souza pela parceria.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos (PPGEAL)-UFPR, por me aceitar como aluna para esse curso de doutorado.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

“Not that I have already obtained all this, or have already been made perfect, but I press on to take hold of that for which Christ Jesus took hold of me.”

(HOLY BIBLE, Philippians, 3,12)

RESUMO

Diferentes modelos de glicerólise enzimática foram utilizados no estudo de controle ótimo da alimentação de substrato para a otimização da produção de monoacilgliceróis (MAG) e diacilgliceróis (DAG) a partir de óleos vegetais. Considerando a complexidade dos modelos de comportamento dinâmico selecionados, optou-se pela aplicação de estratégias de otimização estocástica. A partir de um estudo preliminar demonstrou-se que o algoritmo Evolução Diferencial é um método confiável para a otimização dinâmica da produção de xilitol em um processo de fermentação em sistema batelada alimentada. O mesmo superou os algoritmos Otimização por Enxame de Partículas e Colônia Artificial de Abelhas em termos de maior robustez, melhor performance para minimização global da função objetivo, menor esforço numérico e/ou melhor desempenho para lidar com a restrição de volume. Sendo assim, o mesmo foi escolhido como ferramenta de otimização para os estudos de maximização da produção de MAG e DAG. O primeiro modelo cinético selecionado teve seus parâmetros cinéticos ajustados a partir de dados experimentais da literatura para a glicerólise enzimática do óleo de oliva na presença de solvente n-butano e surfatante AOT. O controle ótimo da alimentação de glicerol aplicado neste modelo ajustado resultou em um aumento de 49,30 % da concentração final de MAG (g/ g de substrato) em relação ao processo em batelada com quantidades mássicas iniciais de glicerol e de enzima equivalentes às inseridas no reator de batelada alimentada. Percebe-se, portanto, que este processo é muito afetado pela atividade enzimática e que, a inibição da mesma gerada pela adição do glicerol, é menor num processo em que a alimentação de substrato é controlada. Em contrapartida, o controle ótimo aplicado na glicerólise enzimática do óleo de oliva na presença de solvente orgânico terc-butanol para produção de DAG não resultou em diferença significativa no rendimento comparado à um processo batelada nas mesmas condições de concentrações de substratos (água e glicerol) e de enzima. Isso se deve ao fato desta reação entrar em equilíbrio com atividades enzimáticas ainda elevadas, e que, pequenas diferenças na atividade das mesmas em um processo batelada ou batelada alimentada, não resultam em impactos significativos no rendimento final de DAG. Desta forma, conclui-se que o controle ótimo pode ser utilizado como uma ferramenta alternativa para maximizar o componente de interesse da reação de glicerólise nos processos em que a reação é grandemente afetada pela atividade enzimática e esta, por sua vez, inibida pela adição do substrato.

Palavras-chave: Controle ótimo, glicerólise, diacilgliceróis, monoacilgliceróis.

ABSTRACT

Different models of enzymatic glycerolysis were used in the study of substrate feed optimal control to optimize the production of monoacylglycerols (MAG) and diacylglycerols (DAG) from vegetable oils. Considering the complexity of the dynamic behavior models selected, there was opted for the application of stochastic optimization strategies. From a preliminary study, it was demonstrated that the Differential Evolution algorithm is a reliable method for the dynamic optimization of xylitol production in a fermentation process in a batch system. It also outperformed the algorithms Particle Swarm Optimization and Artificial Bee Colony in terms of greater robustness, better performance for global minimization of objective function, less numerical effort and/or better performance to deal with volume restriction. Therefore it was chosen as an optimization tool for the studies to maximize the production of MAG and DAG. The first kinetic model selected had is kinetic glycerolysis of olive oil in the presence of n-butane and AOT surfactant. The optimal control of the glycerol feed applied in this adjusted model resulted in an increase of 49.30% of the final concentration of MAG (g/g substrate) compared to the batch process with initial mass quantities of glycerol and enzyme equivalent to those added to the feed batch reactor. It is thus realized that this process is greatly affected by the enzymatic activity and that the inhibition thereof generated by the addition of glycerol is less in a process in which the substrate feed is controlled. In contrast, the optimum control applied in the enzymatic glycerolysis of olive oil in the presence of organic solvent tert-butanol for DAG production did not result in a significant difference in yield compared to a batch process under the same conditions of substrate concentrations (water and glycerol) and enzyme. This is because this reaction enters into equilibrium with still high enzymatic activities and that, small differences in their activities in a batch or feed batch processes do not result in significant impacts on the final yield of DAG. In this way, it is concluded that the optimal control can be used as an alternative tool to maximize the component of interest of the glycerolysis reaction in the processes in which the reaction is greatly affected by the enzymatic activity and this, in turn, inhibited by the addition of substrate.

Keywords: Optimal control, glycerolysis, diacylglycerols, monoacylglycerols.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– Fluxograma com a apresentação da organização deste documento de tese.....	25
Figura 2	– Estruturas gerais de um monoacilglicerol (a) 1 – MAG, (b) 2 – MAG e de um diacilglicerol (c) 1,2 ou 2,3 – DAG, (d) 1,3 – DAG.....	26
Figura 3	– Diferentes marcas de comercialização do xilitol.....	41
Figura 4	– Diagramas dos biorreatores utilizados para a produção de xilitol por fermentação. (a) Estudo de caso 1: Sistema de alimentação simples, (b) Estudo de caso 2: Sistema de alimentação dupla.....	49
Figura 5	– Fluxograma do algoritmo Evolução Diferencial utilizado para a otimização do processo de produção do xilitol (AHLERS et al., 1997).....	51
Figura 6	– Fluxograma do algoritmo Otimização por Enxame de Partículas utilizado para a otimização do processo de produção do xilitol (KENNEDY; EBERHARD, 1995; SCHWAAB et al., 2008; EBERHARD; KENNEDY, 1995).....	53
Figura 7	– Fluxograma do algoritmo Colônia Artificial de Abelhas utilizado para a otimização do processo de produção do xilitol (KARABOGA; BASTURK, 2007; KARABOGA et al., 2014).....	55
Figura 8	– Perfis ótimos de alimentação e concentração para a produção de xilitol utilizando (a, b) DE, (c, d) PSO e (e, f) ABC. Caso de estudo 1: operação com alimentação única e tempo de processo fixo.....	57
Figura 9	– Perfis de convergência de membros da população nas melhores séries de (a) DE, (b) PSO e (c) ABC na otimização global do processo de produção de xilitol: Caso de estudo 1 - operação com alimentação única e tempo de processo fixo.....	59
Figura 10	– Perfis ótimos de alimentação e concentração para a produção de xilitol utilizando (a, b) DE, (c, d) PSO e (e, f) ABC. Caso de estudo 1: operação com alimentação única e tempo de processo como variável de decisão.....	61
Figura 11	– Melhor solução para a vazão de alimentação e perfis de concentração na otimização da produção de xilitol utilizando (a, b) DE, (c, d) PSO	

	e (e, f) ABC. Estudo de caso 2: operação com alimentação dupla e com tempo de processo fixo.....	63
Figura 12	– Pior solução para a vazão de alimentação e perfis de concentração na otimização da produção de xilitol utilizando (a, b) DE, (c, d) PSO e (e, f) ABC. Estudo de caso 2: operação com alimentação dupla e com tempo de processo fixo.....	64
Figura 13	– Melhor solução para a vazão de alimentação e perfis de concentração na otimização da produção de xilitol utilizando (a, b) DE, (c, d) PSO e (e, f) ABC. Estudo de caso 2: operação com alimentação dupla e com tempo de processo como variável de decisão.....	66
Figura 14	– Pior solução para a vazão de alimentação e perfis de concentração na otimização da produção de xilitol utilizando (a, b) DE, (c, d) PSO e (e, f) ABC. Estudo de caso 2: operação com alimentação dupla e com tempo de processo como variável de decisão.....	67
Figura 15	– Valor da função de penalização (J_{pen}) em relação ao número de funções calculadas (NFE) das melhores corridas com (a) DE, (b) PSO e (c) ABC no processo de otimização da produção de xilitol: Estudo de caso 2 com o tempo de processo como variável de decisão.....	68
Figura 16	– Diagramas dos biorreatores utilizados para a reação de glicerólise na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT para a produção de (a) MAG, e (b) DAG e MAG.....	75
Figura 17	– Diagrama do biorreator utilizado para a reação de glicerólise na presença de solvente terc-butanol DAG.....	79
Figura 18	– Comparação dos dados experimentais (símbolos) com os simulados (curvas) para a glicerólise do óleo de oliva em meio n-butano/AOT, sendo: TAG – amarelo e quadrados, DAG – azul e triângulos, e MAG – vermelho e círculos. Razão molar de glicerol para óleo de (a) 2:1, (b) 6:1 e (c) 10:1 em concentração enzimática de 7,5% b. s., teor de enzima de (d) 5% b. s. e (e) 10% b.s.com uma razão molar de glicerol para óleo fixa de 2:1 e (f) a representação da atividade enzimática relativa à razão molar de glicerol para óleo de 2:1 e concentração de enzima de 10% b. s. Condições experimentais fixas:	

	70°C, 10 bar, razão mássica de n-butano para substrato de 4:1, agitação de 600 rpm e teor de AOT de 7,5% b. s. Resultados dos teores de TAG, DAG e MAG expressos em surfatante e sem glicerol.....	82
Figura 19	– Resultados da melhor corrida utilizando DE para otimização do processo de produção de MAG, sendo: TAG – amarelo, DAG – azul, MAG – vermelho, FFA – verde, G – roxo e W - alaranjado. Glicerólise na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT. Razão molar inicial de glicerol para óleo de 1,2:1; teor inicial de enzima de 7,5 % em relação a massa total dos substratos iniciais (6,9791 g) e temperatura de 70°C.....	83
Figura 20	– Resultados da simulação do processo batelada da glicerólise na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT, sendo: TAG – amarelo, DAG – azul, MAG – vermelho, FFA – verde, G – roxo e W - alaranjado. Massas iniciais de óleo e glicerol de 82,64 g e 16,97 g, respectivamente; teor inicial de enzima de 6,98 g e temperatura de 70°C.....	85
Figura 21	– Comparação do perfil de atividade enzimática de processo de glicerólise na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT obtidos pelo (a) controle ótimo para maximizar a produção de MAG e pela (b) simulação do processo batelada com a mesma quantidade de massa de glicerol e enzima utilizados na batelada alimentada otimizada.....	86
Figura 22	– Comparação do perfil de atividade enzimática de processo de glicerólise na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT obtidos pelo (a, b) controle ótimo para maximizar a soma da produção de MAG e DAG e pela (c, d) simulação do processo batelada com a mesma quantidade de massa de óleo (82,64 g), glicerol (16,7714 g) e enzima (6,9791) utilizados na batelada alimentada otimizada. Sendo: TAG – amarelo, DAG – azul, MAG – vermelho, FFA – verde, G – roxo e W – alaranjado.....	88

Figura 23	– Comparação dos dados experimentais (símbolos) com os simulados (curvas), sendo: TAG – amarelo e quadrados, DAG – azul e triângulos, MAG – vermelho e círculos, FFA – verde e losangos; para as razões molares de glicerol para óleo de (a) 6:1, (b) 0,8:1 e (c) 0,5:1,5 na cinética da glicerólise do óleo de oliva em meio terc-butanol. Condições experimentais fixas: 55°C, concentração enzimática de 10% b. s., agitação de 600 rpm e razão mássica de terc-butanol para substrato (óleo e glicerol) de 1:1.....	90
Figura 24	– Simulação da concentração dos componentes na glicerólise em terc-butanol para as condições de razão molar de glicerol para óleo de 0,5:1,5; 55°C; concentração enzimática de 10% b. s.; agitação de 600 rpm e razão mássica de terc-butanol para substrato (óleo e glicerol) de 1:1. Sendo: TAG – amarelo, DAG – azul, MAG – vermelho, FFA – verde, G – roxo e W – alaranjado.....	91
Figura 25	– Controle ótimo da glicerólise em terc-butanol para as condições do Caso O1 (corrente de entrada com 97% de G em W). Sendo: TAG – amarelo, DAG – azul, MAG – vermelho, FFA – verde, G – roxo e W – alaranjado.....	92
Figura 26	– Controle ótimo de glicerólise em tert-butanol para as condições do Caso O2 (corrente de entrada com 90% de G em W). Sendo: TAG – amarelo, DAG – azul, MAG – vermelho e FFA – verde.....	93
Figura 27	– Comparação de corridas de controle ótimo de glicerólise em tert-butanol para as condições de teste (a, b) O2 (corrente de entrada com 90% de G em W), (c, d) O3 (corrente de entrada com 75% de G em W) e (e, f) O4 (corrente de entrada com 50% de G em W). (a, c, e) TAG – amarelo, DAG – azul, MAG – vermelho, FFA – verde, G – roxo e W – alaranjado.....	97
Figura 28	– Resultados das simulações bateladas (a, b) S1 e (c, d) S2 com as mesmas quantidades de mássicas de substratos e enzimas utilizadas nas respectivas corridas otimizadas dos testes O1 (corrente de entrada com 97% de G em W) e O2 (corrente de entrada com 90% de G em W). (a, c) TAG – amarelo, DAG – azul, MAG – vermelho, FFA – verde, G – roxo e W – alaranjado.....	98

Figura 29	– Resultados das simulações bateladas (a, b) S3 e (c, d) S4 com as mesmas quantidades de mássicas de substratos e enzimas utilizadas nas respectivas corridas otimizadas dos testes O3 (corrente de entrada com 75% de G em W) e O4 (corrente de entrada com 50% de G em W). (a, c) TAG – amarelo, DAG – azul, MAG – vermelho, FFA – verde, G – roxo e W – alaranjado.....	99
Figura 30	– Controle ótimo da glicerólise em terc-butanol para as condições do Caso O5 (corrente de entrada com 97% de G em W e tempo de processo 180 min.). (a, c) TAG – amarelo, DAG – azul, MAG – vermelho, FFA – verde, G – roxo e W – alaranjado.....	100
Figura 31	– Simulação da glicerólise em terc-butanol para as condições do Caso S5. (a, b) TAG – amarelo, DAG – azul, MAG – vermelho, FFA – verde, G – roxo e W – alaranjado.....	101

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	– Parâmetros do modelo cinético usado na modelagem da produção de xilitol (SIRISANSANEEYAKUL, 1993; TOCHAMPA et al., 2005)...	46
Tabela 2	– Condições iniciais usadas para modelagem do biorreator em operação batelada alimentada para a produção de xilitol.....	48
Tabela 3	– Concentrações de operação para o Estudo de caso 1.....	49
Tabela 4	– Concentrações de operação para o Estudo de caso 2.....	49
Tabela 5	– Parâmetros dos algoritmos DE, PSO e ABC utilizados para otimizar o problema da produção de xilitol.....	52
Tabela 6	– Resultados da otimização do processo de produção de xilitol utilizando DE, ABC, PSO e GA. Estudo de caso 1: operação com alimentação única e tempo de processo fixo.....	57
Tabela 7	– Resultados da otimização do processo de produção de xilitol utilizando DE, ABC e PSO. Estudo de caso 1: operação com alimentação única e tempo de processo como variável de decisão.....	60
Tabela 8	– Resultados da otimização do processo de produção de xilitol utilizando DE, ABC e PSO. Estudo de caso 2: operação com alimentação dupla e tempo de processo fixo.....	62
Tabela 9	– Resultados da otimização do processo de produção de xilitol utilizando DE, ABC e PSO. Estudo de caso 2: operação com alimentação dupla e tempo de processo como variável de decisão.....	65
Tabela 10	– Parâmetros de desativação enzimática ajustados para representar a glicerólise do óleo de oliva em n-butano comprimido e surfatante AOT.....	74
Tabela 11	– Parâmetros das equações de taxas de reação para representar a glicerólise do óleo de oliva na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT.....	74
Tabela 12	– Parâmetros da literatura para o modelo cinético (equação de desativação) da glicerólise do óleo de oliva catalisada pela Novozym 435 na presença do solvente terc-butanol (VOLL et al., 2011).....	77
Tabela 13	– Parâmetros da literatura para o modelo cinético (equações das taxas de reação) da glicerólise do óleo de oliva catalisada pela Novozym	

	435 na presença do solvente terc-butanol (VOLL et al., 2011).....	78
Tabela 14	– Dados das simulações e otimizações dos diferentes casos de estudo da glicerólise na presença de terc-butanol.....	80
Tabela 15	– Perfil ótimo da vazão de alimentação do processo de produção de MAG utilizando DE. Glicerólise na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT.....	83
Tabela 16	– Resultados da otimização do processo de produção de MAG utilizando DE. Glicerólise na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT.....	84
Tabela 17	– Resultados da otimização do processo de produção da soma de DAG e MAG utilizando DE. Glicerólise na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT.....	87
Tabela 18	– Perfil ótimo da vazão de alimentação do processo de produção da soma de DAG e MAG utilizando DE. Glicerólise na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT.....	87
Tabela 19	– Resultados da otimização do processo de produção de DAG utilizando DE. Glicerólise na presença de solvente terc-butanol.....	94
Tabela 20	– Perfil ótimo da vazão de alimentação do processo de produção de DAG utilizando DE. Glicerólise na presença de solvente terc-butanol.....	95
Tabela 21	– Resultados das simulações dos processos de produção de DAG. Glicerólise na presença de solvente terc-butanol.....	99

LISTA DE SIGLAS

ABC	– Colônia Artificial de Abelhas
AOT	– Sulfosuccinato (Aerosol – OT)
BSC	– Base seca da massa de células
CVP	– Vetor de controle parametrizado
DAG	– Diacilgliceróis
DE	– Evolução Diferencial
E _T	– Enzima total
FFA	– Ácidos graxos livres
G	– Glicerol
GA	– Algoritmo Genético
MAG	– Monoacilgliceróis
O	– Caso de otimização
PSO	– Otimização por Enxame de Partículas
S	– Caso de simulação
TAG	– Triacilgliceróis
W	– Água

LISTA DE SÍMBOLOS

A	– Atividade enzimática relativa
a_{cel}	– Área superficial específica da célula, m ² / g
A_i	– Fator pré-exponencial, g substrato ² / g enzima min mmol
C_{xit}^e	– Concentração de xilitol extracelular, g/ L
$C_{xit,0}^e$	– Concentração inicial de xilitol extracelular, g/ L
C_{glc}^f	– Concentração de glicose na corrente de entrada, g/ L
C_{xil}^f	– Concentração de xilose na corrente de entrada, g/ L
C_{glc}	– Concentração de glicose, g/ L
$C_{glc,0}$	– Concentração inicial de glicose, g/ L
C_{xit}^i	– Concentração de xilitol intracelular, g/ L
$C_{xit,0}^i$	– Concentração inicial de xilitol intracelular, g/ L
CR	– Constante de probabilidade da operação crossover do DE
C_x	– Concentração de biomassa, g/ L
$C_{x,0}$	– Concentração inicial de biomassa, g/ L
C_{xil}	– Concentração de xilose, g/ L
$C_{xil,0}$	– Concentração inicial de xilose, g/ L
c_1	– Constante de aceleração positiva do termo cognitivo do PSO
c_2	– Constante de aceleração positiva do termo social do PSO
D	– Número de variáveis de decisão
$[DAG]$	– Concentração de DAG, mmol/ g substrato
$[DAG \times E \times DAG]$	– Concentração do complexo DAG \times E \times DAG, mmol/ g substrato
$[DAG \times E \times FFA]$	– Concentração do complexo DAG \times E \times FFA, mmol/ g substrato
$[DAG \times E \times G]$	– Concentração do complexo DAG \times E \times G, mmol/ g substrato
$[DAG \times E \times MAG]$	– Concentração do complexo DAG \times E \times MAG, mmol/ g substrato
$[DAG \times E \times W]$	– Concentração do complexo DAG \times E \times W, mmol/ g substrato
E_{ai}	– Parâmetro de energia, K
$[E_{at}]$	– Concentração total de enzimas ativas, g enzimas/ g substrato
$[E_T]$	– Concentração total de enzimas, mmol/ g substrato
$[ET]$	– Concentração total de enzimas, g enzimas/ g substrato
F	– Vazão da solução de alimentação dos substratos, L/ h
$[FFA]$	– Concentração de FFA, mmol/ g substrato

f_G	– Fração de G na corrente de entrada
F_{glc}	– Vazão da solução de alimentação de glicose, L/ h
f_i	– Valor da função objetivo no ABC
fit_i	– Qualidade fitness de uma determinada solução do ABC
f_W	– Fração de W na corrente de entrada
F_{xil}	– Vazão da solução de alimentação de xilose, L/ h
F_i	– Variáveis de decisão para a vazão de alimentação dada em L/ h
$[G]$	– Concentração de G, mmol/ g substrato
$[G \times E \times FFA]$	– Concentração do complexo DAG \times E \times MAG, mmol/ g substrato
G_{entra}	– Concentração molar de G, mmol/ g glicerol
J	– Índice de performance
J_{pen}	– Função de penalidade
k	– Índice do intervalo de controle do CVP
k_i	– Constantes cinéticas ($i = 1, 2, \dots, 36$)
K_i	– Constantes de equilíbrio ($i = 1, 2, \dots, 12$), g substrato ² / mmol ²
kd	– Constante de desativação, (min mmol glicerol) ⁻¹
$kd2$	– Fator de correção que leva em consideração os fenômenos limitantes ocasionados pelo excesso de enzimas no meio, g substrato/ g enzimas
$K_{i,glc}$	– Constante de inibição para o consumo de xilose pela glicose, g/ L
$K_{i,xil}$	– Constante de inibição da absorção de glicose pela xilose, g/ L
K_r	– Constante de repressão para a glicose, g/ L
$K_{S,glc}$	– Constante de saturação de Monod para a glicose, g/ L
$K_{S,xil}$	– Constante de saturação de Monod para xilose, g/ L
$K_{S,xit}$	– Constante de saturação de Monod para o xilitol, g/ L
L	– Performance integrada durante a operação
$[MAG]$	– Concentração de MAG, mmol/ g substrato
$[MAG \times E \times FFA]$	– Concentração do complexo MAG \times E \times FFA, mmol/ g substrato
$[MAG \times E \times MAG]$	– Concentração do complexo MAG \times E \times MAG, mmol/ g substrato
$[MAG \times E \times W]$	– Concentração do complexo MAG \times E \times W, mmol/ g substrato
m_{entra}	– Massa de substrato adicionada pela corrente de entrada, g substrato
m_T	– Massa total no interior do biorreator, g
M_{xil}	– Massa molar de xilose, g/ mol
$M_{xil ad}$	– Massa molar de xilose adicionada no biorreator, g

M_{xit}	– Massa molar de xilitol, g/ mol
n	– Número de amostras para o cálculo do desvio padrão
N	– Ordem de desativação relacionada à atividade
NFE	– Número de vezes que a função objetivo foi calculada
NI	– Número máximo de iterações
NP	– Número de membros da população
p	– Laço da grade de tempo do CVP
P_{xit}	– Coeficiente de permeabilidade da membrana para o xilitol, m/s
P_i	– Valor probabilidade para uma nova posição do ABC
Q	– Ordem de desativação relacionada a concentração de glicerol
q_{glc}	– Taxa específica de consumo de glicose, g/g BSC h
q_{glc}^m	– Taxa específica máxima de consumo de glicose, g/g BSC h
q_{xil}^m	– Taxa específica máxima de consumo de xilose, g/g BSC h
q_{xil}	– Taxa específica de consumo de xilose, g/g BSC h
$rand(j)$	– Número aleatório
$r_{f,xit}$	– Taxa específica de formação de xilitol, g xilitol/g BSC h
$rmsd_{DAG}$	– Desvios quadráticos médios entre os resultados simulados e os dados experimentais para a concentração de DAG (% b. s.)
$rmsd_{MAG}$	– Desvios quadráticos médios entre os resultados simulados e os dados experimentais para a concentração de MAG (% b. s.)
$rmsd_{TAG}$	– Desvios quadráticos médios entre os resultados simulados e os dados experimentais para a concentração de TAG (% b. s.)
$r'_{t,xit}$	– Taxa específica de xilitol em base seca da massa de células, g xilitol/g BSC h
$r_{u,xit}$	– Taxa específica de consumo de xilitol intracelular, g xilitol/g BSC h
r_1	– Número aleatório do PSO
r_2	– Número aleatório do PSO
s	– Desvio padrão
T	– Tempo, h (para o problema de xilitol) ou min (para os problemas de glicerólise)
T	– Temperatura, K
$[TAG]$	– Concentração de TAG, mmol/ g substrato
$[TAG \times E \times G]$	– Concentração do complexo TAG \times E \times G, mmol/ g substrato

$[TAG \times E \times MAG]$	– Concentração do complexo TAG \times E \times MAG, mmol/ g substrato
$[TAG \times E \times W]$	– Concentração do complexo TAG \times E \times W, mmol/ g substrato
t_0	– Tempo inicial
t_f	– Tempo final
U	– Variáveis de entrada
$u_{i,j}$	– Vetor de solução do DE obtido da operação crossover
$u(t)$	– Sinal de controle do método CVP
V_c	– Volume do meio de cultura calculado, L
V_e	– Velocidade associada a cada partícula do PSO
V_i	– Constantes de taxa aparente ($i = 1, 2, \dots, 36$), substrato ² / g enzima min mmol ²
$v_{i,j}$	– Vetor de possível solução para o DE (na operação crossover) e o ABC
V_L	– Volume do meio de cultura, L
$V_{L,0}$	– Volume inicial do meio de cultura, L
V_{max}	– Capacidade volumétrica máxima do biorreator, L
W	– Parâmetro peso de inércia do PSO
$[W]$	– Concentração de W, mmol/ g substrato
W_{entra}	– Concentração molar de W, mmol/ a água
x	– Valor da amostra para cálculo do desvio padrão
\bar{x}	– Valor médio das amostras para cálculo do desvio padrão
X	– Variáveis de estado
\dot{X}	– Valores ótimos das variáveis de controle
$x_{i,j}$	– Possível solução do DE, PSO e ABC para o problema de otimização
$x_{k,j}$	– Vetor aleatório do ABC
$x_{i,j}^{global}$	– Melhor valor fitness de todas as partículas do PSO alcançado até então
$x_{i,j}^{local}$	– Melhor valor fitness que cada partícula do PSO alcançou até então
y_{low}	– Limite inferior para as variáveis de otimização do PSO
y_{upp}	– Limite superior para as variáveis de otimização do PSO
$Y_{x/xit}$	– Rendimento de biomassa em xilitol
φ	– Valor da performance dos estados no tempo final
μ	– Taxa específica de crescimento celular, h ⁻¹
μ_{glc}	– Taxa de crescimento específico relacionada à concentração de glicose, h ⁻¹

μ_{glc}^m	– Taxa de crescimento específico máximo relacionada à concentração de glicose, h ⁻¹
μ_{xit}^m	– Taxa de crescimento específico máximo relacionada à concentração de xilitol, h ⁻¹
μ_{xit}	– Taxa de crescimento específico relacionada à concentração de xilitol, h ⁻¹
ρ_x	– Densidade mássica das células, g BSC/L do volume celular
$\emptyset_{i,j}$	– Número aleatório do ABC
σ_k	– Valor de controle no intervalo k do CVP

SUMÁRIO

1	CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO.....	22
1.1	OBJETIVO GERAL.....	23
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
2	CAPÍTULO 2 – FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	26
2.1	MONOACILGLICERÓIS E DIACILGLICERÓIS.....	26
2.2	PRODUÇÃO DE ACILGLICEROIS.....	27
2.3	CONCEITO E MÉTODOS DE OTIMIZAÇÃO.....	35
2.4	TEORIA E ESTRATÉGIA DE CONTROLE ÓTIMO.....	37
3	CAPÍTULO 3 – ANÁLISE DE DESEMPENHO DE OTIMIZADORES ESTOCÁSTICOS.....	40
3.1	METODOLOGIA.....	43
3.1.1	Descrição do processo de fermentação para produção de xilitol.....	43
3.1.2	Implementação e descrição dos métodos estocásticos utilizados para o controle ótimo da produção de xilitol.....	49
3.2	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	56
3.2.1	Estudo de caso 1: Operação com alimentação única.....	56
3.2.2	Estudo de caso 2: Operação com alimentação dupla.....	61
3.3	CONSIDERAÇÕES PARCIAIS.....	69
4	CAPÍTULO 4 – CONTROLE ÓTIMO DA PRODUÇÃO DE ACILGLICERÓIS.....	70
4.1	METODOLOGIA.....	70
4.1.1	Glicerólise na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT.....	71
4.1.2	Glicerólise na presença de solvente terc-butanol.....	75
4.2	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	81
4.2.1	Glicerólise na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT.....	81
4.2.2	Glicerólise na presença de solvente terc-butanol.....	89
4.3	CONSIDERAÇÕES PARCIAIS.....	101
5	CAPÍTULO 5 – CONCLUSÃO	103
6	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	104
	REFERÊNCIAS.....	105

1 CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO

Monoacilgliceróis (MAG) e diacilgliceróis (DAG) são produtos da transformação de óleos vegetais que possuem diversas aplicações na indústria de alimentos. Estudos apontam que a ingestão de óleos ricos em DAG pode promover a perda de peso e garantir um menor acúmulo de gordura visceral (D'ALONZO et al., 1982; WATANABE et al., 1998; NAGAO et al., 2000; MAKI et al., 2002; LO et al., 2008). O MAG por sua vez é utilizado como um aditivo em alimentos devido à sua propriedade emulsificante. Ele também é utilizado na produção de tecidos, de plásticos e na formulação de óleos para diferentes tipos de maquinários devido a sua capacidade lubrificante e plastificante (MEFFERT, 1984).

Ambos os acilgliceróis MAG e DAG são comumente produzidos para comercialização por glicerólise química de óleos e gorduras em altas temperaturas na presença de catalisadores químicos. No entanto, eles também podem ser obtidos através de reações de glicerólise catalisadas por lipases, as quais apresentam como vantagens maior seletividade e pureza do produto final, menor gasto energético, e ausência de catalisadores tóxicos que demandam etapas posteriores de purificação. Apesar de todas essas vantagens, as lipases destinadas para processos na área de alimentos são caras pois elas devem ser livres de outras enzimas. As reações enzimáticas devem, portanto, ser otimizadas para se tornarem competitivas com os processos de catálise química.

A glicerólise enzimática é uma reação caracterizada pela migração de uma molécula de ácido graxo do triacilglicerol (TAG, componente em maior concentração nos óleos vegetais) para um acil receptor (glicerol). Entretanto, o estudo apresentado por VALÉRIO et al. (2009a) aponta que processos com altas razões iniciais de glicerol para óleo diminuem o rendimento final de MAG e DAG devido à aderência do glicerol ao suporte de enzimas, causando limitações de transferência de massa. Dessa forma, ao mesmo tempo que este substrato é fundamental para que ocorra a reação de glicerólise, uma quantidade excessiva do mesmo pode causar limitações para que a reação efetivamente aconteça. Diante dessa problemática, surgiu o interesse na aplicação de uma técnica de controle ótimo para a adição de glicerol ao meio reacional durante a operação de um reator em operação batelada alimentada.

Uma das técnicas de controle ótimo de maior aplicação é a técnica de vetor de controle parametrizado (CVP, do inglês, *control vector parameterization*), na qual as variáveis de controle são discretizadas e os valores ótimos das mesmas encontrados por técnicas de programação não linear. Uma das principais características do CVP é que o

número de variáveis pode ser alto em função do grau de parametrização do vetor de controle definido. Neste sentido, algoritmos de otimização robustos e que possibilitem a convergência para um ótimo global são de fundamental importância.

Até o presente momento, não se tem o conhecimento de estudos de controle ótimo para a produção de MAG e DAG. O processo de glicerólise enzimática é caracterizado por uma cinética altamente não linear, a qual é constituída por três reações sequenciais que combinam moléculas de TAG, DAG e MAG com glicerol formando complexos intermediários (VOLL et al., 2011). Tal característica exige que os modelos matemáticos que representam essas cinéticas tenham alto grau de não linearidade e multiplicidade de soluções. Nestas condições, métodos determinísticos de estimação podem convergir para soluções de mínimos locais, devido à alta não-linearidade da função objetivo.

Vários autores (KAPADI; GUDI, 2004; LEE et al., 2007; LIU et al., 2013; ROCHA et al., 2014) já têm demonstrado a eficiência de métodos estocásticos em problemas complexos de otimização dinâmica (ou controle ótimo), pelo fato dos mesmos serem otimizadores globais que convergem para uma solução ótima aceitável sem o requerimento de nenhum pressuposto como linearidade da função objetivo ou quantidade de variáveis de processo. Sendo assim, esse trabalho tem como objetivo buscar a maximização da produção de MAG, DAG, ou a soma de ambos, através do controle da vazão de alimentação de substrato, utilizando como ferramenta de otimização um algoritmo estocástico que apresenta o melhor desempenho para o problema em questão.

1.1 OBJETIVO GERAL

O objetivo geral deste trabalho é o estudo da aplicação de métodos de otimização estocástica para o controle ótimo de reações de glicerólise para maximização de MAG e DAG.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Dentre os objetivos específicos deste trabalho estão:

- a) A determinação do algoritmo estocástico que possui melhor desempenho para um problema de controle ótimo da vazão de alimentação de substrato em um biorreator de operação batelada alimentada;

- b) A validação da implementação dos modelos matemáticos em rotinas computacionais através da comparação dos resultados simulados com dados experimentais de diferentes reações de glicerólise obtidos da literatura;
- c) A aplicação do algoritmo estocástico pré-definido para o controle ótimo de diferentes processos de reação de glicerólise selecionados para a maximização da produção de MAG e de DAG;
- d) A avaliação da melhor configuração de processo, batelada ou batelada alimentada, para diferentes processos de glicerólise.

O presente documento, tese de doutorado em Engenharia de Alimentos, está organizado de forma que o Capítulo 2 apresenta toda a fundamentação teórica incluindo a importância dos acilgliceróis na indústria de alimentos, a forma de produção dos mesmos e as técnicas de otimização estudadas neste trabalho. O Capítulo 3 apresenta a análise de desempenho dos algoritmos estocásticos escolhidos em um problema de controle ótimo da alimentação de substrato em um biorreator que opera em sistema batelada alimentada para a produção de xilitol. O Capítulo 4 apresenta os materiais e métodos, bem como os resultados e discussões de cada estudo de caso realizado no presente trabalho. Para finalizar, o Capítulo 5 apresenta as conclusões desta tese e o Capítulo 6 as sugestões para trabalhos futuros. Um fluxograma com a sequência de todas as informações apresentadas neste documento de tese é apresentado na Figura 1.

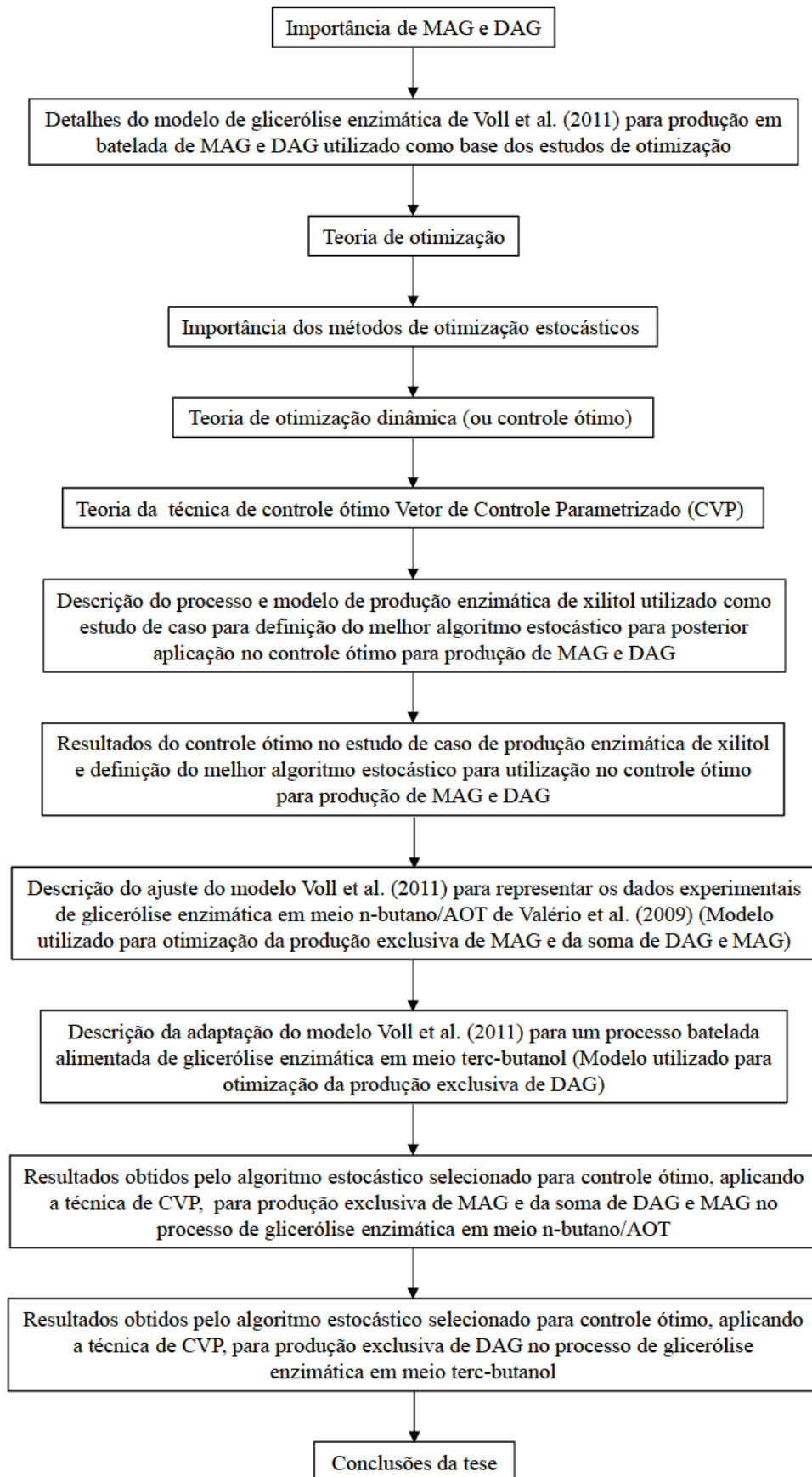


Figura 1 – Fluxograma com a apresentação da organização deste documento de tese

2 CAPÍTULO 2 – FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Neste capítulo é apresentada uma revisão sobre a importância da produção dos acilgliceróis e as diferentes reações enzimáticas para obtenção dos mesmos. Além disso, é apresentada a teoria do controle ótimo, as diferentes técnicas de otimização, e a justificativa da escolha dos algoritmos estocásticos para o estudo da maximização da produção de acilgliceróis.

2.1 MONOACILGLICERÓIS E DIACILGLICERÓIS

O DAG consiste em duas cadeias de ácidos graxos esterificadas a um glicerol e pode existir naturalmente em duas formas isoméricas, sendo elas 1,2 (ou 2,3) - DAG e 1,3 - DAG (PHUAU et al., 2015). O MAG por sua vez, consiste na ligação éster de apenas um ácido graxo ao glicerol (DESTAILLATS et al., 2010). Na Figura 2 são apresentadas as possíveis estruturas de DAG e MAG.

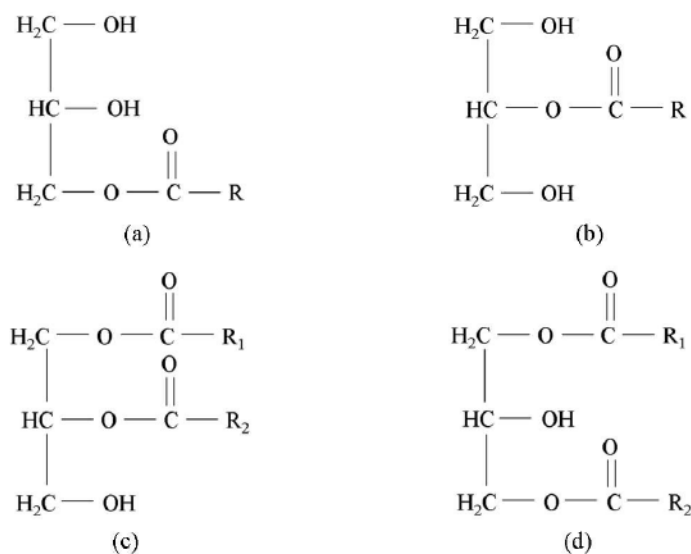


Figura 2 – Estruturas gerais de um monoacilglicerol (a) 1 – MAG, (b) 2 – MAG e de um diacilglicerol (c) 1,2 ou 2,3 – DAG, (d) 1,3 – DAG

Estudos recentes têm demonstrado que a ingestão de óleo enriquecido em DAG (>80%) pode proporcionar vantagens nutricionais, como promover a perda de peso e o menor acúmulo de gordura, quando comparado ao óleo convencional composto primordialmente de TAG (D'ALONZO et al., 1982; WATANABE et al., 1998; NAGAO et al., 2000; MAKI et al., 2002; LO et al., 2008). A utilização do DAG foi examinada pelo Japanese Ministry of Health,

Labour and Welfare e, em 1998, a substância foi aprovada como “Alimento para uso específico de saúde” (FOSHU, do inglês, Food for Specified Health Uses) (MYRIE; JONES, 2011). O óleo enriquecido em DAG também entrou na lista dos “Geralmente reconhecidos como seguros” (GRAS, do inglês, Generally Recognized as Safe) pela US FDA (Food and Drug Administration) (KAO CORPORATION, 2000). A Food Standards Australia New Zealand (FSANZ) também recomendou a aprovação do uso desse óleo como um novo alimento pois, entre muitas razões, ele é considerado nutricionalmente adequado para consumo em geral (FOOD STANDARDS AUSTRALIA NEW ZEALAND, 2004). Além desse potencial nutricional dos óleos ricos em DAG, eles também podem ser utilizados como emulsificantes e estabilizantes em alimentos, cosméticos e fármacos (FUREBY et al., 1997; NAKAJIMA, 2004; SATRIANA, 2016).

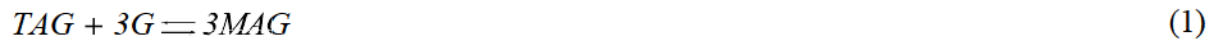
Os MAG por sua vez são amplamente utilizados na indústria de alimentos como emulsificantes em produtos de panificação, margarinas, produtos lácteos, etc. Eles também possuem importante aplicação na indústria de cosméticos e fármacos para a preparação de sistemas emulsificantes de óleo e água e para melhoria da consistência de cremes e loções. Além disso, devido às suas excelentes propriedades lubrificantes e plastificantes, MAG também são utilizados no processamento têxtil, produção de plásticos e formulação de óleos para diferentes tipos de maquinários (MEFFERT, 1984).

2.2 PRODUÇÃO DE ACILGLICEROIS

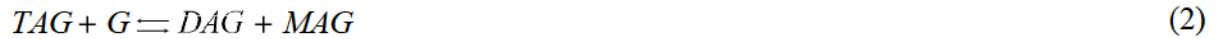
A principal dificuldade na produção de acilgliceróis está em estabelecer um grau de homogeneização suficiente entre as fases hidrofílica do glicerol e hidrofóbica dos triacilglicerídeos. O glicerol, a temperatura ambiente, geralmente tem solubilidade aproximada de apenas 4% em óleos. Consequentemente, para aumentar esse teor em reações de glicerólise química convencional, tem-se utilizado temperaturas elevadas, as quais variam entre 220 e 260°C. A desvantagem desse tipo de condição é que, além da relativamente alta demanda de energia térmica, pode haver o desenvolvimento de cor e sabor indesejável no óleo. Além da alta temperatura faz-se também o uso de catalisadores, preferencialmente dos alcalinos, como NaOH, KOH e Ca(OH)_2 . O problema do uso destes é que os mesmos necessitam ser neutralizados ou removidos dos monoglicerídeos. Caso contrário, eles podem causar reversão e, no caso de emulsificantes de alimentos, contribuir em problemas de sabor, estabilidade de cor e, ocasionalmente, no caso de produtos submetidos à elevadas temperaturas, na formação de espuma (SONNTAG, 1982).

Em contraste à glicerólise química convencional surge o interesse pelo estudo da reação catalisada por lipases em meio orgânico (DAMPSTRUP et al., 2006; PAWONGRAT et al., 2007), em sistema livre de solvente (TÜTER; AKSOY, 2000; WEBER; MUKHERJEE, 2004), com enzimas imobilizadas ou não (TÜTER; AKSOY, 2000; DAMPSTRUP et al., 2006; CHEIRSILP et al., 2007; VOLL et al., 2011), em líquido iônico (GUO; XU, 2006) ou ainda, utilizando fluido comprimido como meio reacional (JACKSON; KING, 1997; MOQUIN et al., 2006).

A equação geral da reação de glicerólise pode ser descrita de acordo com a Equação 1 (SOLAESA et al., 2016).



Todavia acredita-se que a glicerólise segue duas etapas de reação. Primeiramente, uma molécula de glicerol (G) reage com uma molécula de TAG produzindo uma molécula de DAG e outra de MAG. Em seguida uma segunda reação pode ocorrer entre uma molécula de DAG e outra de G formando mais duas de MAG. Ambas reações podem ser representadas pelas Equações 2 e 3 (SOLAESA et al., 2016).

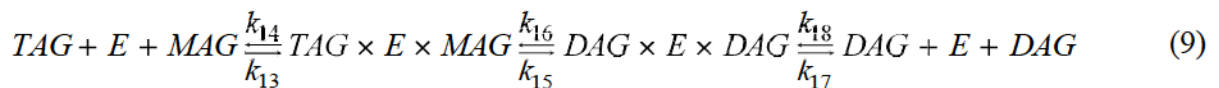
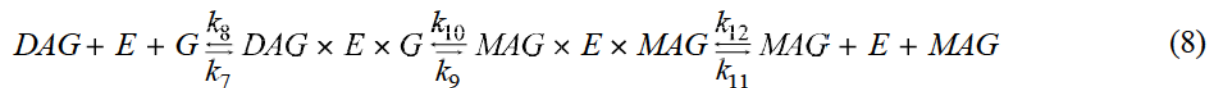
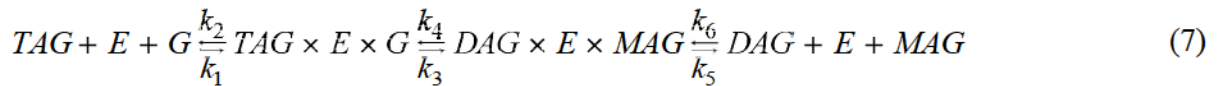


Contudo, a produção enzimática de acilgliceróis não se dá exclusivamente através de reações de glicerólise. Hidrólise e esterificação também podem ser rotas para produção de DAG e/ou MAG (VOLL et al, 2011). No caso da hidrólise enzimática, estudos sugerem que ela também é realizada em etapas, conforme as Equações 4, 5 e 6 (MILLS; MCCLAIN, 1949; MOQUIN; TEMELLI, 2008). Sendo assim, para a produção de acilgliceróis é necessário que a reação seja controlada para que a hidrólise completa seja evitada (BORNSCHEUER, 1995).



Em que W representa a molécula de água (do inglês, *water*) e FFA a molécula de ácido graxo livre (do inglês, *free fatty acid*).

Por fim, a esterificação é caracterizada pela reação inversa da hidrólise, ou seja, pela reação do ácido graxo livre com o glicerol (PHUAH et al., 2015). Um estudo realizado por Tan e Yin (2005) demonstrou que tanto a esterificação, quanto a hidrólise e até mesmo o isomerismo do MAG e do DAG podem estar envolvidos em um complicado processo de glicerólise. Voll et al. (2011) por exemplo, sugerem um modelo cinético de produção de MAG e DAG que considera as etapas de glicerólise, hidrólise e esterificação e que é baseado no mecanismo sequencial Bi Bi ordenado. Em um mecanismo sequencial, todos os substratos devem combinar-se com as enzimas antes de a reação propriamente dita ocorrer. O fato de o mecanismo ser ordenado, significa que os substratos reagem com as enzimas e os produtos são liberados em uma ordem específica. O termo Bi Bi se refere ao fato de a reação ocorrer entre duas moléculas de substratos e formar duas de produtos (MARANGONI, 2003). O modelo de Voll et al. (2011) reproduziu satisfatoriamente os dados experimentais da glicerólise em operação batelada do óleo de oliva na presença de solvente terc-butanol utilizando enzimas comerciais (Novozym 435) imobilizadas. Sendo assim, foi possível concluir não apenas que todas as reações podem ocorrer durante um mesmo processo, mas também que, dependendo da razão molar inicial de glicerol para óleo, a produção de MAG ou a de DAG é favorecida. Como o modelo proposto por Voll et al. (2011) é utilizado como base para o desenvolvimento desta tese, mais detalhes sobre o mesmo são apresentados a seguir. As Equações (7), (8) e (9) representam as reações de glicerólise e as Equações (10), (11) e (12), as de hidrólise/esterificação.



$$TAG + E + W \xrightleftharpoons[k_{19}]{k_{20}} TAG \times E \times W \xrightleftharpoons[k_{21}]{k_{22}} DAG \times E \times FFA \xrightleftharpoons[k_{23}]{k_{24}} DAG + E + FFA \quad (10)$$

$$DAG + E + W \xrightleftharpoons[k_{25}]{k_{26}} DAG \times E \times W \xrightleftharpoons[k_{27}]{k_{28}} MAG \times E \times FFA \xrightleftharpoons[k_{29}]{k_{30}} MAG + E + FFA \quad (11)$$

$$MAG + E + W \xrightleftharpoons[k_{31}]{k_{32}} MAG \times E \times W \xrightleftharpoons[k_{33}]{k_{34}} G \times E \times FFA \xrightleftharpoons[k_{35}]{k_{36}} G + E + FFA \quad (12)$$

Em que E representa a concentração de enzimas livre (mmol/ g substrato) e k_i ($i = 1, 2, \dots, 36$) representam as constantes cinéticas (VOLL et al., 2011).

A partir desse balanço, equações de taxa de reação foram propostas para os compostos livres conforme demonstrado pelas Equações (13) a (18) (VOLL et al., 2011).

$$\begin{aligned} \frac{d[TAG]}{dt} = & -k_1 \cdot [TAG] \cdot [E] \cdot [G] + k_2 \cdot [TAG \times E \times G] - k_{13} \cdot [TAG] \cdot [E] \cdot [MAG] \\ & + k_{14} \cdot [TAG \times E \times MAG] - k_{19} \cdot [TAG] \cdot [E] \cdot [W] + k_{20} \cdot [TAG \times E \times W] \end{aligned} \quad (13)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[DAG]}{dt} = & k_5 \cdot [DAG \times E \times MAG] - k_6 \cdot [DAG] \cdot [E] \cdot [MAG] \\ & - k_7 \cdot [DAG] \cdot [E] \cdot [G] + k_8 \cdot [DAG \times E \times G] + 2 \cdot k_{17} \cdot [DAG \times E \times DAG] \\ & - 2 \cdot k_{18} \cdot [DAG] \cdot [E] \cdot [DAG] + k_{23} \cdot [DAG \times E \times FFA] \\ & - k_{24} \cdot [DAG] \cdot [E] \cdot [FFA] - k_{25} \cdot [DAG] \cdot [E] \cdot [W] + k_{26} \cdot [DAG \times E \times W] \end{aligned} \quad (14)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[MAG]}{dt} = & k_5 \cdot [DAG \times E \times MAG] - k_6 \cdot [DAG] \cdot [E] \cdot [MAG] \\ & + 2 \cdot k_{11} \cdot [MAG \times E \times MAG] - 2 \cdot k_{12} \cdot [MAG] \cdot [E] \cdot [MAG] \\ & - k_{13} \cdot [TAG] \cdot [E] \cdot [MAG] + k_{14} \cdot [TAG \times E \times MAG] + k_{29} \cdot [MAG \times E \times MAG] \\ & - k_{30} \cdot [MAG] \cdot [E] \cdot [FFA] - k_{31} \cdot [MAG] \cdot [E] \cdot [W] + k_{32} \cdot [MAG \times E \times W] \end{aligned} \quad (15)$$

$$\begin{aligned}
\frac{d[FFA]}{dt} &= k_{23} \cdot [DAG \times E \times FFA] - k_{24} \cdot [DAG] \cdot [E] \cdot [FFA] \\
&+ k_{29} \cdot [MAG \times E \times FFA] - k_{30} \cdot [MAG] \cdot [E] \cdot [FFA] + k_{35} \cdot [G \times E \times FFA] \\
&- k_{36} \cdot [G] \cdot [E] \cdot [FFA]
\end{aligned} \tag{16}$$

$$\begin{aligned}
\frac{d[G]}{dt} &= -k_1 \cdot [TAG] \cdot [E] \cdot [G] + k_2 \cdot [TAG \times E \times G] - k_7 \cdot [DAG] \cdot [E] \cdot [G] \\
&+ k_8 \cdot [DAG \times E \times G] + k_{35} \cdot [G \times E \times FFA] - k_{36} \cdot [G] \cdot [E] \cdot [FFA]
\end{aligned} \tag{17}$$

$$\begin{aligned}
\frac{d[W]}{dt} &= -k_{19} \cdot [TAG] \cdot [E] \cdot [W] + k_{20} \cdot [TAG \times E \times W] - k_{25} \cdot [DAG] \cdot [E] \cdot [W] \\
&+ k_{26} \cdot [DAG \times E \times W] - k_{31} \cdot [MAG] \cdot [E] \cdot [W] + k_{32} \cdot [MAG \times E \times W]
\end{aligned} \tag{18}$$

As taxas de reação para os diferentes complexos enzimáticos (Equações 19 a 30) podem ser descritas de acordo com a hipótese do estado pseudo-estacionário (VOLL et al., 2011). Ou seja, considerou-se que os complexos enzimáticos têm uma “vida” muito curta e que ocorrem apenas em baixas concentrações. Deste modo, pode-se assumir que a velocidade de formação de um complexo é igual à sua velocidade de consumo. Logo, a taxa global de formação de um complexo é igual à zero (FOGLER, 2002).

$$\begin{aligned}
\frac{d[TAG \times E \times G]}{dt} &= 0 = k_1 \cdot [TAG] \cdot [E] \cdot [G] - k_2 \cdot [TAG \times E \times G] \\
&- k_3 \cdot [TAG \times E \times G] + k_4 \cdot [DAG \times E \times MAG]
\end{aligned} \tag{19}$$

$$\begin{aligned}
\frac{d[DAG \times E \times MAG]}{dt} &= 0 = k_3 \cdot [TAG \times E \times G] - k_4 \cdot [DAG \times E \times MAG] \\
&- k_5 \cdot [DAG \times E \times MAG] + k_6 \cdot [DAG] \cdot [E] \cdot [MAG]
\end{aligned} \tag{20}$$

$$\begin{aligned}
\frac{d[DAG \times E \times G]}{dt} &= 0 = k_7 \cdot [DAG] \cdot [E] \cdot [G] - k_8 \cdot [DAG \times E \times G] \\
&- k_9 \cdot [DAG \times E \times G] + k_{10} \cdot [MAG \times E \times MAG]
\end{aligned} \tag{21}$$

$$\begin{aligned} \frac{d[MAG \times E \times MAG]}{dt} = 0 &= k_9 \cdot [DAG \times E \times G] - k_{10} \cdot [MAG \times E \times MAG] \\ &- k_{11} \cdot [MAG \times E \times MAG] + k_{12} \cdot [MAG] \cdot [E] \cdot [MAG] \end{aligned} \quad (22)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[TAG \times E \times MAG]}{dt} = 0 &= k_{13} \cdot [TAG] \cdot [E] \cdot [MAG] - k_{14} \cdot [TAG \times E \times MAG] \\ &- k_{15} \cdot [TAG \times E \times MAG] + k_{16} \cdot [DAG] \cdot [E] \cdot [DAG] \end{aligned} \quad (23)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[DAG \times E \times DAG]}{dt} = 0 &= k_{15} \cdot [TAG \times E \times MAG] - k_{16} \cdot [DAG \times E \times DAG] \\ &- k_{17} \cdot [DAG \times E \times DAG] + k_{18} \cdot [DAG] \cdot [E] \cdot [DAG] \end{aligned} \quad (24)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[TAG \times E \times W]}{dt} = 0 &= k_{19} \cdot [TAG] \cdot [E] \cdot [W] - k_{20} \cdot [TAG \times E \times W] \\ &- k_{21} \cdot [TAG \times E \times W] + k_{22} \cdot [DAG \times E \times FFA] \end{aligned} \quad (25)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[DAG \times E \times FFA]}{dt} = 0 &= k_{21} \cdot [TAG \times E \times W] - k_{22} \cdot [DAG \times E \times FFA] \\ &- k_{23} \cdot [DAG \times E \times FFA] + k_{24} \cdot [DAG] \cdot [E] \cdot [FFA] \end{aligned} \quad (26)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[DAG \times E \times W]}{dt} = 0 &= k_{25} \cdot [DAG] \cdot [E] \cdot [W] - k_{26} \cdot [DAG \times E \times W] \\ &- k_{27} \cdot [DAG \times E \times W] + k_{28} \cdot [MAG \times E \times FFA] \end{aligned} \quad (27)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[MAG \times E \times FFA]}{dt} = 0 &= k_{27} \cdot [DAG \times E \times W] - k_{28} \cdot [MAG \times E \times FFA] \\ &- k_{29} \cdot [MAG \times E \times FFA] + k_{30} \cdot [MAG] \cdot [E] \cdot [FFA] \end{aligned} \quad (28)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[MAG \times E \times W]}{dt} = 0 &= k_{31} \cdot [MAG] \cdot [E] \cdot [W] - k_{32} \cdot [MAG \times E \times W] \\ &- k_{33} \cdot [MAG \times E \times W] + k_{34} \cdot [G \times E \times FFA] \end{aligned} \quad (29)$$

$$\frac{d[G \times E \times FFA]}{dt} = 0 = k_{33} \cdot [MAG \times E \times W] - k_{34} \cdot [G \times E \times FFA] - k_{35} \cdot [G \times E \times FFA] + k_{36} \cdot [G] \cdot [E] \cdot [FFA] \quad (30)$$

A concentração total de enzimas $[E_T]$ (mmol/ g substrato) é definida pela somatória das concentrações dos complexos e da enzima livre conforme a Equação (31).

$$\begin{aligned} [E_T] = & [E] + [TAG \times E \times G] + [DAG \times E \times MAG] + [DAG \times E \times G] \\ & + [MAG \times E \times MAG] + [TAG \times E \times MAG] + [DAG \times E \times DAG] + [TAG \times E \times W] \\ & + [DAG \times E \times FFA] + [DAG \times E \times W] + [MAG \times E \times FFA] + [MAG \times E \times W] \\ & + [G \times E \times FFA] \end{aligned} \quad (31)$$

As Equações (19) à (31), após algumas manipulações algébricas, podem ser descritas de forma a expressar as concentrações dos complexos e da enzima livre como funções das concentrações de TAG, DAG, MAG, FFA, G, W e E_T . As funções resultantes podem ser substituídas nas Equações (13) a (18) e, após algumas manipulações algébricas, obter-se as taxas de reações representadas pelas Equações (32) a (37). A atividade enzimática, presente nas equações e representada pelo símbolo a , é definida pela razão entre a concentração total de enzimas ativas $[E_{at}]$ (g enzima/ g substrato) e a concentração enzimática total $[ET]$ (g enzima/ g substrato), conforme Equação 38 (VOLL et al., 2011).

$$\frac{d[TAG]}{dt} = a \cdot [ET] \cdot \frac{\left(-V_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + V_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] - V_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] + V_6 \cdot [DAG]^2 - V_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + V_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] \right)}{\left(1 + K_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + K_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] + K_3 \cdot [DAG] \cdot [G] + K_4 \cdot [MAG]^2 + K_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] + K_6 \cdot [DAG]^2 + K_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + K_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] + K_9 \cdot [DAG] \cdot [W] + K_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] + K_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + K_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \right)} \quad (32)$$

$$\frac{d[DAG]}{dt} = a \cdot [ET] \cdot \frac{\left(V_1 \cdot [TAG] \cdot [G] - V_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] - V_3 \cdot [DAG] \cdot [G] + V_4 \cdot [MAG]^2 + 2 \cdot V_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] - 2 \cdot V_6 \cdot [DAG]^2 + V_7 \cdot [TAG] \cdot [W] - V_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] - V_9 \cdot [DAG] \cdot [W] + V_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] \right)}{\left(1 + K_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + K_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] + K_3 \cdot [DAG] \cdot [G] + K_4 \cdot [MAG]^2 + K_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] + K_6 \cdot [DAG]^2 + K_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + K_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] + K_9 \cdot [DAG] \cdot [W] + K_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] + K_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + K_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \right)} \quad (33)$$

$$\frac{d[MAG]}{dt} = a \cdot [ET] \cdot \frac{\left(\begin{aligned} &V_1 \cdot [TAG] \cdot [G] - V_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] - 2 \cdot V_3 \cdot [DAG] \cdot [G] \\ &- 2 \cdot V_4 \cdot [MAG]^2 - V_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] + V_6 \cdot [DAG]^2 \\ &+ V_9 \cdot [DAG] \cdot [W] - V_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] \\ &- V_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + V_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)}{\left(\begin{aligned} &1 + K_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + K_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] + K_3 \cdot [DAG] \cdot [G] \\ &+ K_4 \cdot [MAG]^2 + K_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] + K_6 \cdot [DAG]^2 \\ &+ K_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + K_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] + K_9 \cdot [DAG] \cdot [W] \\ &+ K_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] + K_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + K_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)} \quad (34)$$

$$\frac{d[FFA]}{dt} = a \cdot [ET] \cdot \frac{\left(\begin{aligned} &+ V_7 \cdot [TAG] \cdot [W] - V_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] \\ &+ V_9 \cdot [DAG] \cdot [W] - V_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] \\ &+ V_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] - V_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)}{\left(\begin{aligned} &1 + K_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + K_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] + K_3 \cdot [DAG] \cdot [G] \\ &+ K_4 \cdot [MAG]^2 + K_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] + K_6 \cdot [DAG]^2 \\ &+ K_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + K_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] + K_9 \cdot [DAG] \cdot [W] \\ &+ K_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] + K_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + K_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)} \quad (35)$$

$$\frac{d[G]}{dt} = a \cdot [ET] \cdot \frac{\left(\begin{aligned} &-V_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + V_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] - V_3 \cdot [DAG] \cdot [G] \\ &+ V_4 \cdot [MAG]^2 + V_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] - V_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)}{\left(\begin{aligned} &1 + K_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + K_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] + K_3 \cdot [DAG] \cdot [G] \\ &+ K_4 \cdot [MAG]^2 + K_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] + K_6 \cdot [DAG]^2 \\ &+ K_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + K_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] + K_9 \cdot [DAG] \cdot [W] \\ &+ K_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] + K_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + K_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)} \quad (36)$$

$$\frac{d[W]}{dt} = a \cdot [ET] \cdot \frac{\left(\begin{aligned} &-V_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + V_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] - V_9 \cdot [DAG] \cdot [W] \\ &+ V_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] - V_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + V_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)}{\left(\begin{aligned} &1 + K_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + K_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] + K_3 \cdot [DAG] \cdot [G] \\ &+ K_4 \cdot [MAG]^2 + K_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] + K_6 \cdot [DAG]^2 \\ &+ K_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + K_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] + K_9 \cdot [DAG] \cdot [W] \\ &+ K_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] + K_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + K_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)} \quad (37)$$

$$a = \frac{[E_{at}]}{[ET]} \quad (38)$$

Em que, V_i ($i = 1, 2, \dots, 36$) são as constantes de taxa aparente (substrato²/ g enzima min mmol²) e K_i ($i = 1, 2, \dots, 12$) são as constantes de equilíbrio (g substrato²/ mmol²) (VOLL et al., 2011). Ambas constantes são funções das constantes cinéticas (k_i).

Valério et al. (2009a) fizeram reações de glicerólise do óleo de oliva em n-butano comprimido e surfatante AOT. Os autores observaram que um aumento na concentração de glicerol conduz à progressivos piores resultados em termos de concentração de MAG. Isso foi

atribuído à aderência do glicerol ao suporte enzimático, causando limitações de transferência de massa. Por isso, uma equação de desativação empírica foi proposta por Voll et al. (2011) para descrever a desativação enzimática em função da concentração de glicerol no meio reacional, conforme demonstrado pela Equação (39).

$$\frac{da}{dt} = - kd \cdot a^n \cdot [G]^q \quad (39)$$

Em que, kd é a constante de desativação ((min mmol glicerol)⁻¹), n é a ordem de desativação relacionada à atividade podendo ser igual à 1 ou 2, e q é a ordem de desativação relacionada a concentração de glicerol podendo ser igual à 1 ou 2 (VOLL et al., 2011).

Para representar a sensibilidade da reação de glicerólise em relação à temperatura, as constantes de taxa aparente (V_i) foram expressas por Voll et al. (2011) em função da temperatura por uma expressão tipo Arrhenius, conforme Equação 40.

$$V_i = A_i \cdot \exp\left(-\frac{E_{ai}}{T}\right), \quad i = 1, \dots, 12 \quad (40)$$

Em que A_i representa os fatores pré-exponenciais (g substrato²/ g enzima min mmol); E_{ai} , os parâmetros de energia (K) e T , a temperatura (K).

Assim como no modelo de Voll et al. (2011), as reações de glicerólise e hidrólise em paralelo também foram consideradas no modelo empírico de Valério et al. (2009b) para produção de acilgliceróis num sistema livre de solvente na presença de surfatante Triton X-100. Neste caso, novamente, o modelo reproduziu satisfatoriamente os dados experimentais, indicando mais uma vez que as mesmas podem ocorrer paralelamente.

Esses resultados disponíveis na literatura (VALÉRIO et al., 2009a; VOLL et al., 2011) indicam que o controle de alimentação do substrato (glicerol e/ou água) no reator durante o processo de glicerólise pode ser essencial para otimizar a produção de MAG e DAG, em conjunto ou separadamente.

2.3 CONCEITO E MÉTODOS DE OTIMIZAÇÃO

O conceito básico da otimização é encontrar a melhor solução possível para um determinado problema/modelo (SARKER; NEWTON, 2008). No desenho, construção ou manutenção de qualquer sistema de engenharia, diferentes tecnologias e decisões gerenciais

são requeridas em diferentes estágios de processo para minimizar os esforços requeridos ou maximizar os benefícios desejados (RAO, 1996). Os problemas de otimização são desta forma caracterizados pela busca da maximização ou minimização de uma função matemática (função objetivo) que possui um número de variáveis de decisão sujeitas ou não a certas restrições (SARKER; NEWTON, 2008; RANGAIAH, 2010). As restrições são o limite mínimo e máximo das variáveis de processo, as quais podem ser manipuladas (controladas) a fim de maximizar ou minimizar a função que representa o objetivo do meu problema.

Generalizando, a otimização pode ser simplesmente uma minimização, uma vez que o máximo de uma função pode ser encontrado buscando-se o mínimo do valor negativo da mesma função (RAO, 1996).

Um problema de otimização pode ter um único ótimo (um mínimo ou máximo no caso de minimização ou maximização da função objetivo, respectivamente) ou possuir um ótimo global e outros ótimos locais. O mínimo global tem o menor valor da função objetivo numa região de interesse; ou seja, é a melhor resposta do problema de otimização. Por outro lado, um mínimo local tem o valor da função objetivo menor do que aqueles pontos na sua vizinhança, porém, maior do que o do mínimo global. Sendo assim, na maioria dos problemas de otimização, é desejado encontrar o ótimo global, uma vez que ele é melhor que o ótimo local para uma determinada função objetivo. Muitos métodos têm sido propostos e investigados para otimização global e eles podem ser divididos em dois grupos principais: técnicas determinísticas e estocásticas (RANGAIAH, 2010).

Métodos determinísticos utilizam propriedades analíticas (como convexidade) dos problemas de otimização para gerar uma sequência de pontos determinística no espaço de busca que convirja para um ponto ótimo. Porém eles requerem algumas suposições (como a continuidade das funções no problema) para seu sucesso e para fornecer a garantia da convergência para os problemas satisfazendo as suposições subjacentes (RANGAIAH, 2010).

O grupo dos métodos estocásticos diferencia-se dos determinísticos por utilizar números aleatórios na pesquisa pelo ótimo global. As técnicas de otimização global estocástica geralmente convergem rapidamente para uma solução ótima global aceitável quando se possui apenas poucas variáveis de decisão. Elas também não requerem nenhum pressuposto para o problema de otimização (como continuidade da função objetivo e restrições) e podem ser utilizadas em qualquer tipo de problema. Os métodos de otimização estocástica global ainda têm como vantagem serem robustos para problemas de não-linearidade mesmo com um alto número de variáveis (RANGAIAH, 2010).

Em casos de busca pela otimização global em que pouco conhecimento do problema está disponível, métodos de otimização estocásticos são preferíveis devido às suas habilidades de escapar de ótimos locais (SHAOQIANG, et al., 2010).

2.4 TEORIA E ESTRATÉGIA DE CONTROLE ÓTIMO

No caso dos problemas que envolvem o processamento de alimentos, pelo fato de este geralmente se dar em operação batelada ou semi-contínuo, eles são intrinsecamente dinâmicos. Esse fato dificulta as estratégias de operações e a busca pelo design ótimo (PÉREZ-CORREA et al., 2009).

A teoria matemática que lida com a otimização de uma função objetivo em um ambiente dinâmico se chama controle ótimo (LONG, 2015). Em um problema de controle ótimo para um sistema dinâmico busca-se uma trajetória de controle admissível que gera uma trajetória de estado correspondente de maneira que a função objetivo seja minimizada (GEERING, 2007). Basicamente, ele é formado por um conjunto de equações diferenciais com variáveis de estado X e variáveis de entrada U , que variam em função do tempo t (ROUBOS et al., 1997):

$$\dot{X} = f(X, U, t), X(t_0) = X_0 \text{ e } t_0 \leq t \leq t_f \quad (41)$$

De modo que

$$J(t_f) = \varphi(X(t_f), t_f) + \int_0^{t_f} L(X, U, t) dt \quad (42)$$

Em que J representa o índice de performance, φ o valor da performance dos estados no tempo final e L a performance integrada durante a operação (ROUBOS et al., 1997).

A estratégia de controle ótimo foi aplicada com sucesso em estudos de diferentes segmentos na área tecnológica de alimentos (ERDOĞDU; BALABAN, 2002; JIMÉNEZ-HORNERO et al., 2009; YÜZGEÇ, 2010; RODMAN; GEROGIORGIS, 2016). A fermentação para obtenção de cerveja, por exemplo, é caracterizada por ser um complexo fenômeno biológico e por possuir uma natureza dinâmica (OONSIVILAI; OONSIVILAI, 2010). Sendo assim, o controle ótimo da temperatura tem sido apresentado como mecanismo para otimizar a produção de cerveja por diversos autores (CARRILLO-URETA, 2001;

ANDRÉS-TORO et al., 2004; XIAO et al., 2004; OONSIVILAI; OONSIVILAI, 2010; RODMAN; GEROGIORGIS, 2016).

O controle ótimo da temperatura é também utilizado como estratégia de otimização do processo de secagem do fermento biológico (YÜZGEÇ et al., 2006). Ademais, não somente para o processo de secagem, a otimização dinâmica também foi utilizada por Yüzgeç et al. (2009) e Yüzgeç (2010) para a produção de fermento biológico através do controle ótimo da vazão de alimentação de substrato em um fermentador industrial de operação batelada alimentada.

A política de controle ótimo também foi utilizada por Park e Ramirez (1988) para maximização de proteína heteróloga secretada de leveduras em um reator de batelada alimentada. O mesmo modelo foi também utilizado por Sarkar e Modak (2003) em seus estudos de otimização utilizando como variável de controle a vazão de alimentação de substrato.

Para a realização de controle ótimo, utilizou-se neste trabalho o método sequencial-direto ou CVP, no qual, conforme anteriormente mencionado, apenas as variáveis de controle são discretizadas (SCHLEGUER et al., 2005; PÉREZ-CORREA et al., 2009). O problema é então transformado para aplicação de técnicas de programação não linear (SCHLEGUER et al., 2005). A vantagem da utilização da técnica de CVP é que, do ponto de vista operacional, é mais fácil setar a bomba em uma vazão constante por um período de tempo do que variar a vazão continuamente.

O método CVP foi utilizado com sucesso em diferentes processos. Entre eles, no de otimização da produção de lipídios por leveduras oleaginosas controlando a alimentação de duas correntes de entrada contendo razões distintas de carbono e nitrogênio (MUÑOZ-TAMAYO et al., 2014). Pode ser citado também o controle da alimentação de substrato em reatores com operação batelada alimentada para a otimização da concentração de biomassa *Cyanotheca* sp. ATCC 51142 (ALAGESAN et al., 2013) e do crescimento da biomassa *Escherichia coli* (HAFIDI et al., 2008).

O método consiste em que o sinal de controle $u(t)$ é aproximado utilizando intervalos nos quais a função é constante conforme Equação 43.

$$u(t) = \sigma_k \quad t \in [t_{k-1}, t_k) \text{ para } k = 1, \dots, p \quad (43)$$

Sendo $p \geq 1$ o número de intervalos de controle, $t \in [t_{k-1}, t_k)$ é o k intervalo de controle e σ_k é o valor do controle no intervalo k . t_k , $k = 1, \dots, p$, são os laços das grades de tempo que satisfazem a condição: $t_0 = t_0 < t_1 < t_2 < \dots < t_p = t_f$ (LIU et al., 2015).

Dentre os métodos de otimização globais para resolução dos problemas não lineares optou-se por avaliar o desempenho de três otimizadores estocásticos, o de Evolução Diferencial (do inglês, Differential Evolution - DE), o de Otimização por Enxame de Partículas (do inglês, Particle Swarm Optimization - PSO) e o de Colônia Artificial de Abelhas (do inglês, Artificial Bee Colony - ABC); os quais já obtiveram resultados promissores em outros problemas de engenharia (BONILLA-PETRICIOLET et al., 2010; LAZZUS, 2010; SAFFARI et al., 2016). Uma descrição detalhada de cada um deles é feita no Capítulo 3.

3 CAPÍTULO 3 – ANÁLISE DE DESEMPENHO DE OTIMIZADORES ESTOCÁSTICOS

Para a resolução de problemas complexos de otimização dinâmica, muitos autores têm reportado a aplicação de métodos globais de otimização estocástica (KAPADI; GUDI, 2004; LEE et al., 2007; LIU et al., 2013; ROCHA et al., 2014). Por exemplo, Kapadi e Gudi (2004) analisaram os aspectos computacionais do DE adicionado ao método tipo Lagrangiano incluindo penalização dinâmica. O método foi aplicado na otimização de um fermentador de operação batelada alimentada para a produção de etanol sob diferentes condições de processo. Outro exemplo foi a maximização da concentração de ácido láctico, produtividade e rendimento usando simultaneamente os processos de sacarificação e fermentação. A principal vantagem do método proposto para a otimização de fermentadores operando em sistema batelada alimentada foi que a taxa de alimentação do substrato pode ser utilizada como controle e variável de decisão, mesmo considerando limites e restrições no problema de otimização. Os resultados também demonstraram vantagens operacionais no perfil ótimo de alimentação para o processo que possui múltiplas alimentações e restrições nas variáveis de estado para evitar inibição (KAPADI; GUDI, 2004). Lee et al. (2007) aplicaram com sucesso uma versão melhorada do Algoritmo Genético para a otimização do bioprocessos industrial para produção de Penicillin V. Uma outra abordagem de sucesso no controle ótimo baseado em métodos estocásticos foi na fermentação em batelada alimentada da bioconversão do glicerol em 1,3-propanodiol (LIU et al., 2013). Para esse problema foi desenvolvido um algoritmo PSO melhorado e os resultados numéricos demonstraram eficiência no design do processo.

Baseado em estudos de sucesso utilizando algoritmos estocásticos em problemas de controle ótimo em sistemas batelada alimentada (CARRASCO; BANGA, 1997; ROUBOS et al., 1999; KAPADI; GUDI, 2004; SARKAR; MODAK, 2004; LEE et al., 2007; LIU et al., 2013; ROCHA et al., 2014), este capítulo demonstra a avaliação do desempenho dos métodos DE, PSO e ABC, utilizando como estudo de caso o modelo de um biorreator já validado e otimizado na literatura (TOCHAMPA et al., 2015) por outro método estocástico denominado Algoritmo Genético (do inglês, Genetic Algorithm – GA). O problema trata, mais especificamente, do controle ótimo aplicado na otimização da produção de xilitol, tendo como variáveis de controle as taxas das correntes de alimentação de substrato.

O grande desafio da otimização dinâmica em processos biológicos está no fato de eles serem difíceis de controlar. Além de possuírem um comportamento dinâmico que varia

ao longo do tempo, as equações representativas resultantes dos balanços são também altamente não lineares (CARAMIHAI et al., 2007). A complexidade desses processos torna essencial escolha da melhor ferramenta de otimização a ser utilizada e, portanto, o problema de fermentação para produção de xilitol se torna um estudo de caso de interesse para a determinação do método estocástico ideal para o posterior desenvolvimento da tese.

O xilitol é um álcool de açúcar com 5 carbonos (WINKELHAUSEN; KUZMANOVA, 1998). Ele é utilizado na indústria de alimentos como aditivo e agente edulcorante para substituir a sucralose, especialmente para diabéticos (WINKELHAUSEN; KUZMANOVA, 1998; CHEN et al., 2010). O xilitol já tem sido comercializado no Brasil por diversas marcas, porém seu custo é muito elevado, conforme observado pela Figura 3.



Figura 3 – Diferentes marcas de comercialização do xilitol

O xilitol é geralmente obtido via hidrogenação catalítica de xilose (redução) (BOND; DUNNING, 2008). Em contrapartida, a conversão microbiológica de xilose em xilitol é um método alternativo que tem ganhado grande atenção durante as últimas duas décadas (WINKELHAUSEN; KUZMANOVA, 1998). Além de providenciar vantagens técnicas e econômicas, ele também permite o uso de muitos microrganismos (ALBUQUERQUE et al., 2014). Em especial, a levedura *Candida moggi* supera o desempenho de outras leveduras produtoras de xilitol (SIRISANSANEEYAKUL et al., 1995). Ela reduz a xilose em xilitol. No caso em que a xilose é a única fonte de carbono da fermentação, parte do xilitol é convertido em crescimento celular e manutenção de energia. Porém recentes estudos têm reportado que uma melhor estratégia de produção depende da utilização de uma fonte de carbono mais facilmente metabolizada, como a glicose, para a geração de biomassa e energia, para que a maior parte da xilose seja convertida em xilitol (TOCHAMPA et al., 2005; TOCHAMPA et al., 2015).

O processo de fermentação para produção de xilitol pode ser executado via operação batelada alimentada (TOCHAMPA et al., 2015). Nesse modo de operação, um ou mais substratos são gradativamente adicionados ao biorreator fazendo-se o uso de uma ou mais correntes de alimentação (LIM; SHIN, 2013; RÓMOLI et al., 2015). Essa abordagem pode levar a uma condição otimizada de crescimento celular e formação de produto (LIM; SHIN, 2013). Neste tipo de operação batelada alimentada o produto é recuperado apenas no final do processo (JIN et al., 2014; RÓMOLI et al., 2015). O uso da operação em batelada alimentada possui várias vantagens em relação aos processos batelada e contínuos (MINIHANE; BROWN, 1986; CHEN et al., 1995; LIM; SHIN, 2013). Especificamente, ela permite o controle da taxa de alimentação evitando assim a inibição do crescimento da biomassa pelo excesso de substrato (CHEN et al., 1995; LIM; SHIN, 2013; RÓMOLI et al., 2015). Por exemplo, baixas concentrações de glicose podem aumentar a produtividade de xilitol uma vez que altas concentrações desse substrato podem afetar o metabolismo celular da xilose e suprimir a produção de xilitol (TOCHAMPA et al., 2005; TOCHAMPA et al., 2015). Consequentemente, a produtividade e o rendimento podem ser maximizados ao balancear a alimentação de xilose e glicose no biorreator (LIM; SHIN, 2013).

Neste Capítulo, portanto, é apresentado, no subitem 3.1, a descrição do processo de fermentação para a produção de xilitol, incluindo a apresentação do modelo cinético e a formulação do controle ótimo para o sistema batelada alimentada. Além disso são também detalhados a implementação do problema de otimização e os três métodos estocásticos avaliados. O subitem 3.2 apresenta os resultados e discussões referentes ao desempenho dos

métodos DE, PSO e ABC. Por fim, o subitem 3.3 apresenta as conclusões parciais, referentes as conclusões obtidas através dos estudos apresentados no Capítulo 3.

3.1 METODOLOGIA

3.1.1 Descrição do processo de fermentação para produção de xilitol

O processo de fermentação para produção de xilitol pela levedura *Candida mogii* foi analisado em dois cenários operacionais, sendo divididos em dois estudos de caso. No primeiro deles (Estudo de caso 1) o reator batelada alimentada é alimentado com apenas uma corrente que contém uma solução de xilose e glicose. O modelo do processo fermentativo foi reportado por Tochampa et al. (2015) e é definido pelas Equações 44 a 49, que assume o crescimento celular sem taxa de mortalidade. Este modelo é utilizado para o cálculo das concentrações (g/L) de biomassa (C_x), xilose (C_{xil}), glucose (C_{glc}), xilitol extracelular (C_{xit}^e) e xilitol intracelular (C_{xit}^i), além do volume (L) do meio de cultura (fermentador) (V_L). Para a condição de operação em batelada alimentada, variação do volume do meio de cultura com o tempo (t) é igual a vazão (L/h) da solução de substrato alimentado (F). Portanto, o modelo cinético é definido como

$$\frac{dC_x}{dt} = - \frac{F}{V_L} C_x + \mu C_x \quad (44)$$

$$\frac{dC_{xil}}{dt} = \frac{F}{V_L} C_{xil}^f - \frac{F}{V_L} C_{xil} - q_{xil} C_x \quad (45)$$

$$\frac{dC_{glc}}{dt} = \frac{F}{V_L} C_{glc}^f - \frac{F}{V_L} C_{glc} - q_{glc} C_x \quad (46)$$

$$\frac{dC_{xit}^e}{dt} = - \frac{F}{V_L} C_{xit}^e + r'_{t,xit} C_x \quad (47)$$

$$\frac{dC_{xit}^i}{dt} = (r_{f,xit} - r_{u,xit} - r'_{t,xit}) \rho_x - \mu C_{xit}^i \quad (48)$$

$$\frac{dV_L}{dt} = F \quad (49)$$

Nas equações acima, μ é a taxa específica de crescimento celular (h^{-1}), C_{xil}^f e C_{glc}^f são as concentrações respectivas de xilose e de glicose na corrente de entrada (g/L), q_{xil} e q_{glc} são as respectivas taxas específicas de consumo de xilose e glicose (g/g BSC h), $r'_{t,xil}$ é a taxa específica de xilitol em base seca da massa de células (BSC) (g xilitol/g BSC h), $r_{f,xil}$ é a taxa específica de formação de xilitol (g xilitol/g BSC h), $r_{u,xil}$ é a taxa específica de consumo de xilitol intracelular (g xilitol/g BSC h), ρ_x é a densidade mássica das células (g BSC/L do volume celular) e F é a vazão da solução de substrato alimentada (L/h).

Nota-se que o crescimento de levedura depende da glicose alimentada no fermentador e do xilitol produzido a partir de xilose nas células. Uma vez que parte do xilitol produzido pelos microrganismos é excretado, a outra parte é convertida em xilulose que é ainda metabolizada para gerar biomassa e energia (Tochampa et al., 2005). Por conseguinte, a taxa de crescimento específico das células pode ser obtida utilizando:

$$\mu = \mu_{glc} + \mu_{xit} \quad (50)$$

$$\mu = \mu_{glc}^m \frac{C_{glc}}{K_{S,glc} + C_{glc}} + \mu_{xit}^m \frac{C_{xit}^i}{K_{S,xit} + C_{xit}^i} \frac{K_r}{K_r + C_{glc}} \quad (51)$$

Aqui, μ_{glc} e μ_{xit} representam a taxa de crescimento celular específico que está relacionada às concentrações de glicose e xilitol (h^{-1}), μ_{glc}^m e μ_{xit}^m são as taxas de crescimento específico máximo que também estão relacionadas com as concentrações de glicose e xilitol (h^{-1}), $K_{S,glc}$ e $K_{S,xit}$ são as constantes de saturação de Monod para a glicose e o xilitol (g/L), e K_r é a constante de repressão para a glicose (g/L), respectivamente.

A taxa de consumo específica de xilose e glicose é calculada utilizando as seguintes equações:

$$q_{glc} = q_{glc}^m \frac{C_{glc}}{C_{glc} + K_{S,glc} \left(1 + \frac{C_{xil}}{K_{i,xil}} \right)} \quad (52)$$

$$q_{xil} = q_{xil}^m \frac{C_{xil}}{C_{xil} + K_{S,xil} \left(1 + \frac{C_{glc}}{K_{i,glc}} \right)} \quad (53)$$

Onde, q^{m}_{glc} e q^{m}_{xil} são as taxas de consumo específicas máximas de glicose e xilose (g/g BSC h), $K_{S,xil}$ é a constante de saturação de Monod para xilose (g/L), $K_{i,xil}$ é a constante de inibição da absorção de glicose pela xilose (g/L) e $K_{i,glc}$ é a constante de inibição para o consumo de xilose pela glicose (g/L), respectivamente. Essas equações consideram a inibição de consumo competitiva causada pelas concentrações de substratos.

A taxa de xilitol produzido pelas células é representada pela equação de transporte difusivo:

$$r'_{t,xit} = 3,6 \times 10^6 P_{xit} a_{cel} (C_{xit}^i - C_{xit}^e) \quad (54)$$

Em que, P_{xit} é o coeficiente de permeabilidade da membrana para o xilitol (m/s) e a_{cel} é a área superficial específica da célula (m²/g), respectivamente.

A taxa específica de formação de xilitol intracelular é calculada assumindo a conversão de um mol de xilose em xilitol:

$$r_{f,xit} = \frac{M_{xit}}{M_{xil}} q_{xil} \quad (55)$$

Onde, M_{xit} e M_{xil} são as massas molares de xilitol e xilose (g/mol), respectivamente.

O xilitol produzido nas células é utilizado para manutenção de energia e geração de massa celular. No entanto, para simplificar o modelo, o termo de manutenção pode ser negligenciado porque se assume que ele é inferior ao crescimento celular (Tochampa et al., 2005), e a taxa de específica de consumo de xilitol pode ser definida como

$$r_{u,xit} = \frac{\mu_{xit}}{Y_{x/xit}} \quad (56)$$

Em que $Y_{x/xit}$ é o rendimento de biomassa em xilitol.

A Tabela 1 contém os valores dos parâmetros cinéticos utilizados neste modelo. Note-se que estes parâmetros cinéticos foram utilizados para analisar a produção de xilitol numa operação batelada (Tochampa et al., 2005) e para otimizar a operação de um processo batelada alimentada (Tochampa et al., 2015). Em particular, Tochampa et al. (2015) validaram a aplicação deste modelo cinético e confirmaram os resultados obtidos a partir da otimização numérica através de estudos experimentais em uma unidade de escala laboratorial. Observou-se que a consistência deste modelo na ausência de xilose foi verificada utilizando-

se uma simulação sem a alimentação de xilose nas correntes do processo e, como esperado, o xilitol não foi produzido.

Tabela 1 – Parâmetros do modelo cinético usado na modelagem da produção de xilitol (SIRISANSANEEYAKUL, 1993; TOCHAMPA et al., 2005)

Parâmetro	Valor	Unidade
a_{cel}	7,6	m ² /g
M_{xit}	152	g/mol
M_{xil}	150	g/mol
μ_{glc}^m	0,662	h ⁻¹
μ_{xit}^m	0,189	h ⁻¹
q_{xil}^m	0,342	g xilose/g BSC h
q_{glc}^m	3,276	g glicose/g BSC h
$K_{S,xil}$	11,761	g xilose/L
$K_{S,glc}$	9,998	g glicose/L
$K_{S,xit}$	16,068	g xilitol/L
$K_{i,xil}$	14,78	g xilose/L
$K_{i,glc}$	0,1	g glicose/L
K_r	0,1	g glicose/L
P_{xit}	$7,591 \times 10^{-9}$	m/s
ρ_x	120	g BSC/L do volume celular
$Y_{x/xit}$	0,48	g biomassa/g xilitol

Na outra configuração do processo (Estudo de caso 2), os substratos são alimentados separadamente em duas correntes. Por conseguinte, a variação do volume no reator é a soma das vazões da solução de alimentação de xilose (F_{xil}) e da solução de alimentação de glucose (F_{glc}), tal como apresentado na Equação 57. Para este modo de operação, o modelo cinético pode ser definido da seguinte forma

$$\frac{dV_L}{dt} = F_{xil} + F_{glc} \quad (57)$$

$$\frac{dC_x}{dt} = - \frac{F_{xil} + F_{glc}}{V_L} C_x + \mu C_x \quad (58)$$

$$\frac{dC_{xil}}{dt} = \frac{F_{xil}}{V_L} C_{xil}^f - \frac{F_{xil} + F_{glc}}{V_L} C_{xil} - q_{xil} C_x \quad (59)$$

$$\frac{dC_{glc}}{dt} = \frac{F_{glc}}{V_L} C_{glc}^f - \frac{F_{xil} + F_{glc}}{V_L} C_{glc} - q_{glc} C_x \quad (60)$$

$$\frac{dC_{xit}^e}{dt} = - \frac{F_{xil} + F_{glc}}{V_L} C_{xit}^e + r'_{t,xit} C_x \quad (61)$$

Em que, F_{xil} e F_{glc} são as vazões de alimentação dos substratos xilose e glucose (L/h), respectivamente.

Na formulação deste problema tem-se por objetivo a identificação das vazões de alimentação de substrato que maximizem a produção de xilitol, podendo ser descrito por

$$J = \frac{(C_{xit} V_L)_{t_f}}{t_f} \quad (62)$$

Onde J é o valor da produtividade e $(C_{xit} V_L)_{t_f}$ é a massa total de xilitol (g) produzida pelo tempo completo (t_f) de processo (h).

No Estudo de caso 1, a variável manipulada (isto é, a variável de decisão ou otimização) é a vazão de alimentação (F , L/h) da corrente contendo ambos os compostos xilose e glicose. Por outro lado, o Estudo de caso 2 tem duas correntes de alimentação: uma para a solução de xilose e outra para a solução de glicose e, portanto, existem duas variáveis de otimização: F_{xil} e F_{glc} . Em ambos os casos, foi aplicada uma estratégia de CVP, onde foram considerados 10 passos de vazões de alimentação constantes para a simulação do processo. Portanto, o tempo final foi discretizado em 10 períodos iguais, conhecidos por janelas de tempo e, para cada uma delas, a taxa de alimentação foi considerada como uma variável de otimização. Em resumo, 10 variáveis de decisão (F_i) foram manipuladas no Estudo de caso 1, enquanto 20 variáveis de otimização foram consideradas no Estudo de caso 2.

Além das taxas de alimentação, os dois estudos de caso foram simulados com uma variável de decisão adicional: o tempo de operação (t_f). Em cada caso, o processo foi otimizado considerando: 1) t_f como parâmetro fixo e 2) t_f como variável de otimização. O último cenário implicou em 11 e 21 variáveis de decisão para a otimização do processo de produção de xilitol utilizando um e dois fluxos de alimentação, respectivamente.

As taxas de alimentação e o tempo de operação foram sujeitos a limites para a otimização do processo de fermentação. Os limites inferior e superior para as velocidades de alimentação foram de 0,0 e 0,30 L/h, respectivamente. Para as simulações com o tempo de processo como variável de decisão, os limites inferior e superior dessa variável foram 10 e 40 h, respectivamente. Estes valores foram escolhidos com base no trabalho de Tochampa et al. (2015).

O problema de otimização foi também sujeito a uma restrição de volume do reator. Isto é porque o volume máximo do meio no biorreator foi de 4,0 L. Esta restrição foi tratada no problema de optimização com uma função de penalidade (J_{pen}). A função objetivo e o termo de penalização utilizados neste estudo são apresentados a seguir.

$$\text{Função objetivo} = J - J_{pen} \quad (63)$$

$$J_{pen} = \begin{cases} 0; & V_c(t_f) \leq V_{max} \\ 5(V_c - V_{max}) & V_c(t_f) > V_{max} \end{cases} \quad (64)$$

Em que, V_c é o volume de meio calculado (L) e V_{max} é a capacidade do fermentador (isto é, 4,0 L), respectivamente. Observe que o termo de penalidade é subtraído na Equação 63 porque o objetivo J é o tipo de maximização, e o coeficiente 5 na Equação 64 é o parâmetro de penalidade.

As concentrações iniciais de biomassa ($C_{x,0}$), xilose ($C_{xil,0}$), glicose ($C_{glc,0}$), xilitol intracelular ($C_{xit,0}^i$) e extracelular ($C_{xit,0}^e$) e o volume inicial de cultura ($V_{L,0}$) utilizados para a simulação do processo são mostrados na Tabela 2.

Tabela 2 – Condições iniciais usadas para modelagem do biorreator em operação batelada alimentada para a produção de xilitol

Parâmetro	Valor	Unidade
$C_{x,0}$	6,00	g BSC/L
$C_{xil,0}$	0,00	g xilose/L
$C_{glc,0}$	0,00	g glicose/L
$C_{xit,0}^i$	0,00	g xilitol/L de volume celular
$C_{xit,0}^e$	0,00	g xilitol/L
$V_{L,0}$	2,50	L

As condições operacionais de concentrações de xilose (C_{xil}^f) e glicose (C_{glc}^f) na corrente de alimentação e tempo final para o Estudo de caso 1 e o Estudo de caso 2 estão apresentados na Tabela 3 e Tabela 4 respectivamente. As condições selecionadas para o tempo de operação fixo do Estudo de caso 1 foram selecionados de forma a permitir uma posterior comparação com os resultados relatados por Tochampa et al. (2015). Esses autores utilizaram um algoritmo genético (do inglês, Genetic Algorithm - GA) para a otimização global do mesmo modelo de fermentação. Para o Estudo de caso 2, optou-se por diferentes efeitos de diluição de glicose e tempo final fixo pois estes podem alcançar uma taxa de

produção de xilitol elevada (TOCHAMPA et al., 2015). Diagramas esquemáticos que representam ambos os cenários operacionais para a produção de xilitol são apresentados na Figura 4.

Tabela 3 – Concentrações de operação para o Estudo de caso 1

	C_{xil}^f (g/L)	C_{glc}^f (g/L)	t_f (h)
t_f fixo	200	20	40
t_f variável	200	20	Máx. 40

Tabela 4 – Concentrações de operação para o Estudo de caso 2

	C_{xil}^f (g/L)	C_{glc}^f (g/L)	t_f (h)
t_f fixo	200	200	20
t_f variável	200	200	Máx. 40

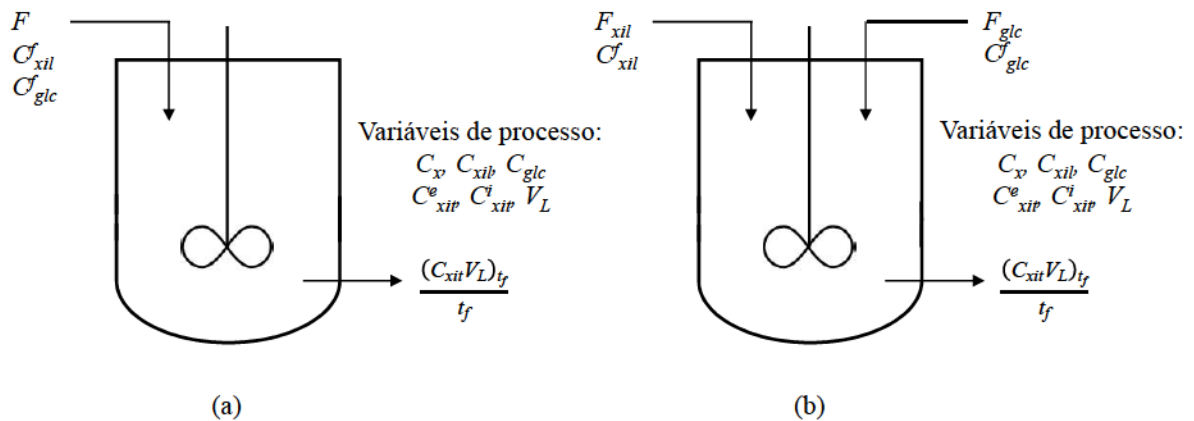


Figura 4 – Diagramas dos biorreatores utilizados para a produção de xilitol por fermentação.

(a) Estudo de caso 1: Sistema de alimentação simples, (b) Estudo de caso 2: Sistema de alimentação dupla

3.1.2 Implementação e descrição dos métodos estocásticos utilizados para o controle ótimo da produção de xilitol

Os problemas de otimização foram implementados no software comercial MATLAB (MATHWORKS, 2000). O sistema de equações diferenciais ordinárias que representa a fermentação em batelada alimentada do xilitol foi resolvido usando um método implícito para sistemas rígidos, que está disponível no código ode23s do MATLAB (ASHINO et al., 2000).

Métodos implícitos são recomendados para resolver problemas de equações diferenciais ordinárias do tipo stiff, o qual caracteriza os casos em que a solução que está sendo buscada varia lentamente, porém possui soluções próximas que variam rapidamente. Neste caso, os métodos implícitos permitem passos de integração maiores para que a solução seja satisfatória dentro de um erro numérico (MOLER, 2003). Como não se têm o conhecimento do comportamento da função objetivo em questão, ou seja, se existe ou não problemas do tipo stiff, foi preferível a utilização do método implícito. Como os perfis da vazão de alimentação que proporcionam as melhores produtividades de xilitol foram calculados usando os algoritmos estocásticos: PSO, DE e ABC (EBERHARD; KENNEDY, 1995; STORN; PRICE, 1997; KARABOGA, 2005). Estes métodos estocásticos foram utilizados para a otimização global da função objetivo sujeita aos limites e restrições descritos nos estudos de caso selecionados.

O algoritmo DE usado neste estudo foi desenvolvido por Rainer Storn com contribuição de Ken Price, Arnold Neumaier e Jim Van Zandt (AHLERS et al., 1997). Ele se inicia com uma população de vetores escolhidos randomicamente, x_{ij} , cada qual representa uma possível solução para o problema de otimização; onde $i \in \{1, 2, \dots, NP\}$ e $j \in \{1, 2, \dots, D\}$, em que NP é o número de membros da população e D é o número de variáveis de decisão (STORN; PRICE, 1997). Em específico para o caso de estudo do xilitol, as variáveis de decisão que compõe cada membro da população representam as vazões de alimentação de substrato, podendo estas ser 10 ou 20 vazões dependendo da configuração do processo estudado e, em alguns casos ainda, ser também o tempo final de processo.

Novos vetores de solução são então gerados usando estratégia de mutação. Vetores de mutação (v_{ij} , $i = 1, 2, \dots, NP$) são obtidos através da combinação de três diferentes vetores (x_{r1j} , x_{r2j} , x_{r3j}) selecionados randomicamente da população (STORN; PRICE, 1997). Especificamente, este vetor de mutação é obtido usando

$$v_{ij} = x_{r1j} + F_{DE}(x_{r2j} - x_{r3j}) \quad (65)$$

Em que, F_{DE} é o fator de amplificação da mutação $\in [0,2]$; $i, r1, r2, r3 \in \{1, 2, \dots, NP\}$ sendo $i \neq r1 \neq r2 \neq r3$ e $j \in \{1, 2, \dots, D\}$, respectivamente (STORN; PRICE, 1997).

Para aumentar a diversidade da população, utiliza-se uma operação de crossover onde o novo vetor de solução u_{ij} é dado por

$$u_{ij} = \begin{cases} v_{ij} & \text{se } rand(j) < CR \\ x_{ij} & \text{caso contrário} \end{cases} \quad (66)$$

Onde, $rand(j) \in [0,1]$ é um número aleatório e $CR \in [0,1]$ é a constante de probabilidade do crossover dada pelo usuário. A população é atualizada comparando os valores de função objetivo de u_{ij} e x_{ij} , onde o vetor de solução que fornece o melhor valor para o problema de otimização é mantido (STORN; PRICE, 1997). A Figura 5 mostra o fluxograma do algoritmo DE usado neste trabalho.

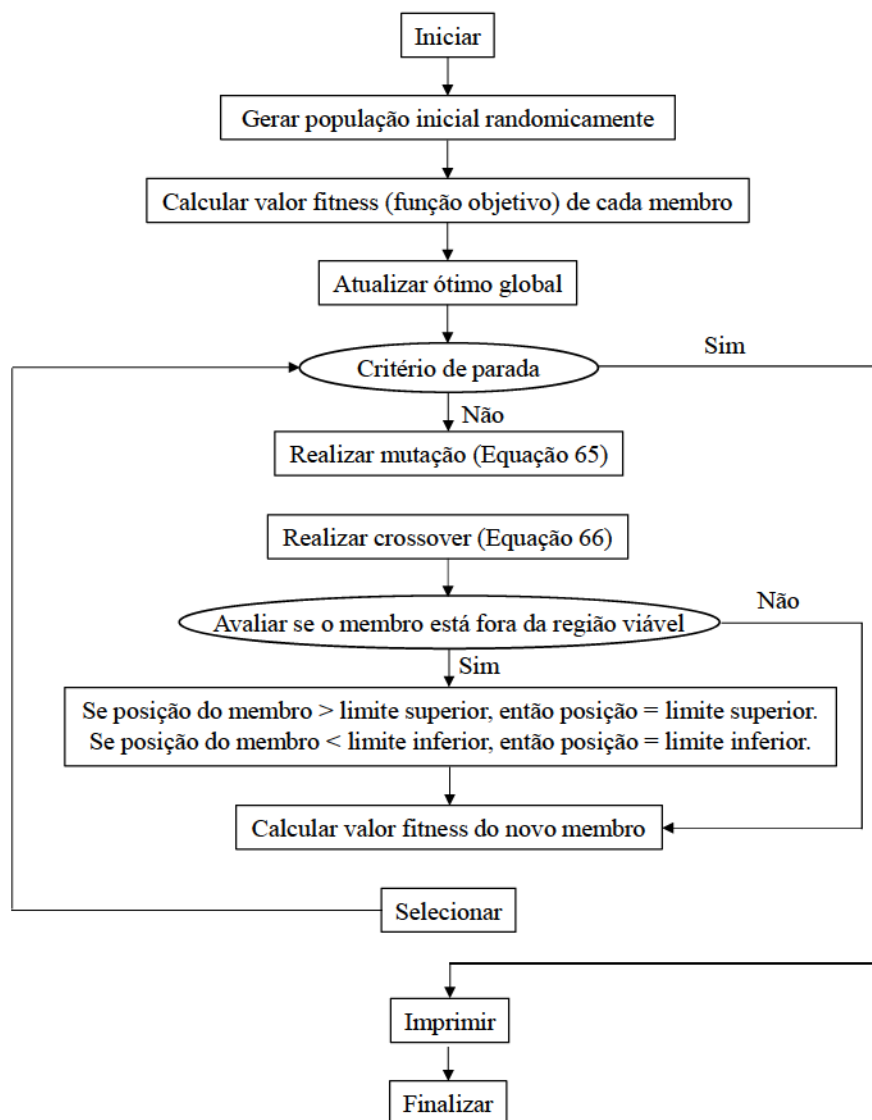


Figura 5 – Fluxograma do algoritmo Evolução Diferencial utilizado para a otimização do processo de produção do xilitol (AHLERS et al., 1997)

Observe que uma etapa foi adicionada ao algoritmo original para evitar a geração de novos membros em regiões inviáveis de variáveis de processo devido à mutação e crossover.

Os parâmetros deste método estocástico foram identificados usando cálculos preliminares e estão relatados na Tabela 5.

Tabela 5 – Parâmetros dos algoritmos DE, PSO e ABC utilizados para otimizar o problema da produção de xilitol

Algoritmo	Parâmetro	Valor sugerido
DE	F_{DE}	0,5
	CR	0,8
PSO	c_1	1,50
	c_2	1,50
	w	0,75
ABC	N_{limite}	100

Os outros dois algoritmos avaliados (PSO e ABC) são baseados na inteligência de enxames. No algoritmo PSO, os membros da população ou soluções potenciais são designados como partículas e toda a população como um enxame (EBERHARD; KENNEDY, 1995; KENNEDY; EBERHARD, 1995). Cada uma das partículas é avaliada de acordo com a função objetivo (valor fitness) e está associada com uma velocidade (ve). Esta é ajustada em cada passo de acordo com o valor fitness ótimo que ela alcançou até então (x_{ij}^{local}) e o melhor valor de todo o enxame (x_{ij}^{global}). As Equações 67 e 68 são utilizadas pelo algoritmo PSO:

$$ve_{i+1,j} = wve_{i,j} + c_1 r_1 (x_{ij}^{local} - x_{i,j}) + c_2 r_2 (x_{ij}^{global} - x_{i,j}) \quad (67)$$

$$x_{i+1,j} = x_{i,j} + ve_{i+1,j} \quad (68)$$

Em que, r_1 e r_2 são dois números aleatórios, w é o peso de inércia que foi introduzido por Shi e Eberhard (1999) para melhorar o desempenho de PSO, e c_1 e c_2 representam as constantes de aceleração positivas do termo cognitivo e social da Equação 67, respectivamente (KENNEDY, 1997; EBERHARD; SHI, 2011). Se o valor de c_1 for muito alto em relação a c_2 , as partículas podem vagar excessivamente e isoladamente através do espaço de busca. Por outro lado, o inverso pode fazer as partículas correrem precipitadamente em direção a um mínimo local (KENNEDY; EBERHARD, 1995).

Vale ressaltar que a velocidade de cada partícula no primeiro enxame/inicial foi calculada de acordo com a Equação 69.

$$ve_{ij} = (2 r_3 - 1)((y_{upp} - y_{low})/2) \quad (69)$$

Em que, r_3 é um número aleatório e, y_{upp} e y_{low} são os limites superior e inferior para as variáveis de otimização.

Para este estudo, os valores dos parâmetros do PSO foram determinados através de cálculos preliminares e os valores selecionados estão relatados na Tabela 5. A Figura 6 mostra o fluxograma do algoritmo PSO utilizado neste estudo.

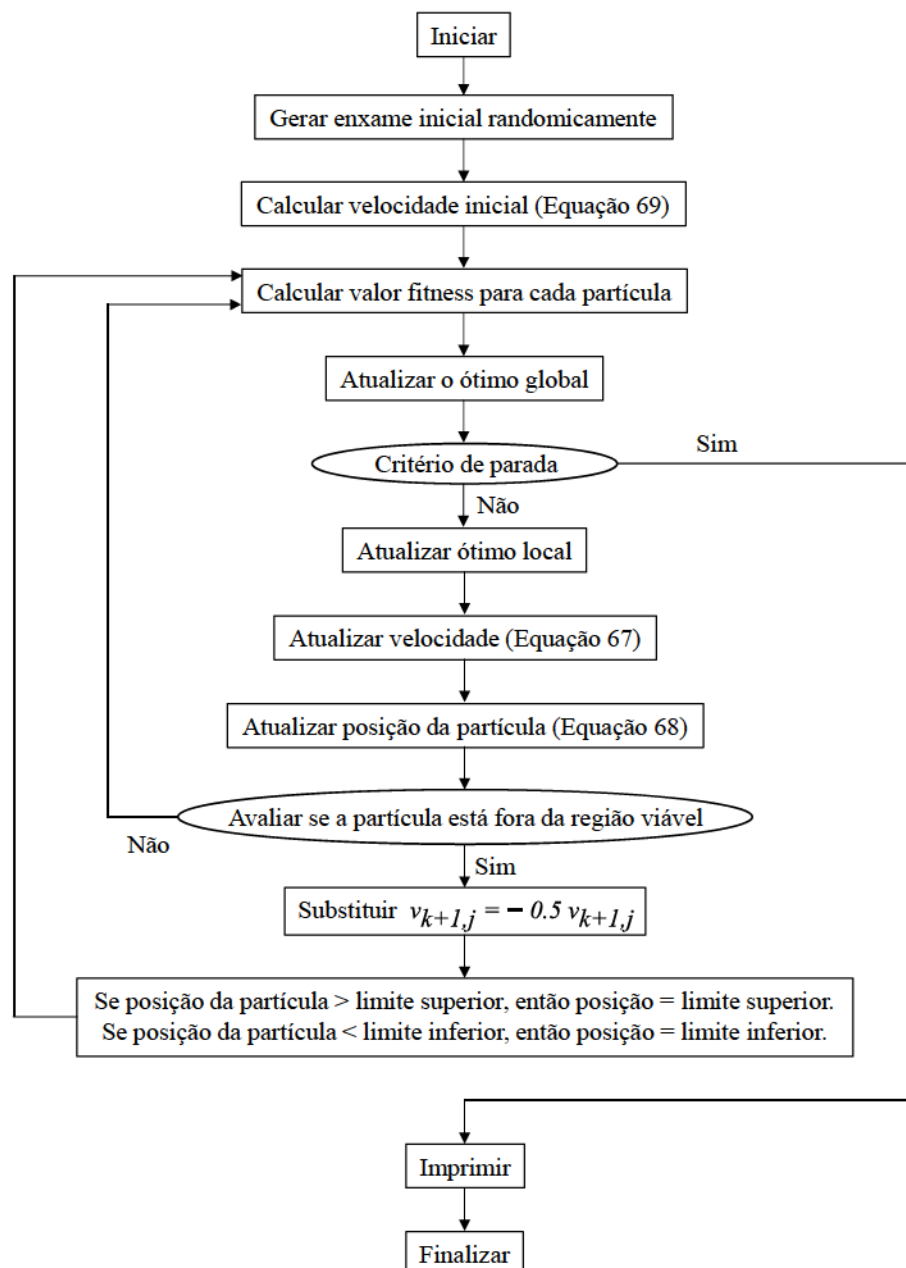


Figura 6 – Fluxograma do algoritmo Otimização por Enxame de Partículas utilizado para a otimização do processo de produção do xilitol (KENNEDY; EBERHARD, 1995; SCHWAAB et al., 2008; EBERHARD; KENNEDY, 1995)

O algoritmo ABC foi proposto por Karaboga (2005) e simula o comportamento de um enxame de abelhas. O algoritmo envolve três categorias diferentes de abelhas, a saber, as trabalhadoras, as espectadoras e as exploradoras. A primeira colônia do algoritmo ABC é formada com o mesmo número de abelhas trabalhadoras e espectadoras (KARABOGA; BASTURK, 2007). Cada uma das abelhas trabalhadoras é responsável por explorar uma fonte de alimento específica. Portanto, o número de abelhas trabalhadoras indica o número de soluções ou fontes de alimento (KARABOGA; OZTURK, 2011). Cada abelha trabalhadora faz uma mudança na sua primeira posição usando a seguinte equação:

$$v_{i,j} = x_{i,j} + \phi_{i,j}(x_{i,j} - x_{k,j}) \quad (70)$$

Onde, $\phi_{i,j}$ é um número aleatório entre $[0,1]$ e $k \in \{1,2, \dots, NP\}$ é calculado aleatoriamente, mas deve ser diferente de i . Se a nova solução ($v_{i,j}$) tem um valor de aptidão melhor do que a mais antiga, a abelha memoriza a nova posição. Por outro lado, se a nova solução é pior, a abelha mantém a primeira posição em sua memória. As abelhas trabalhadoras também são responsáveis por compartilhar os dados obtidos com as espectadoras, as quais escolhem uma fonte de alimento com base nas informações providenciadas (KARABOGA; AKAY, 2009). A probabilidade (P_i) para escolher uma fonte de alimento aumenta com o valor fitness (qualidade do néctar), que é calculado usando (KARABOGA; BASTURK, 2007):

$$P_i = \frac{fit_i}{\sum_{n=1}^{NP} fit_n} \quad (71)$$

Em que, fit_i representa a qualidade (fitness) de uma determinada solução que é calculada com a próxima equação para minimização do objetivo:

$$fit_i = \frac{1}{1+f_i} \quad (72)$$

Em que f_i representa o valor da função objetivo.

Semelhante às abelhas trabalhadoras, as espectadoras realizaram uma modificação em sua posição e verifica-se o valor fitness dessa nova solução. O algoritmo salva a posição correspondente ao melhor resultado (fitness). No ABC, quando uma fonte de alimento não pode ser melhorada através de um número predefinido de testes (N_{limite}), a fonte é

abandonada. Neste caso, as abelhas exploradoras substituem esta fonte abandonada por uma nova selecionada aleatoriamente (KARABOGA; OZTURK, 2011). A Figura 7 apresenta o fluxograma do algoritmo ABC e a Tabela 5 contém os parâmetros do algoritmo utilizados neste estudo.

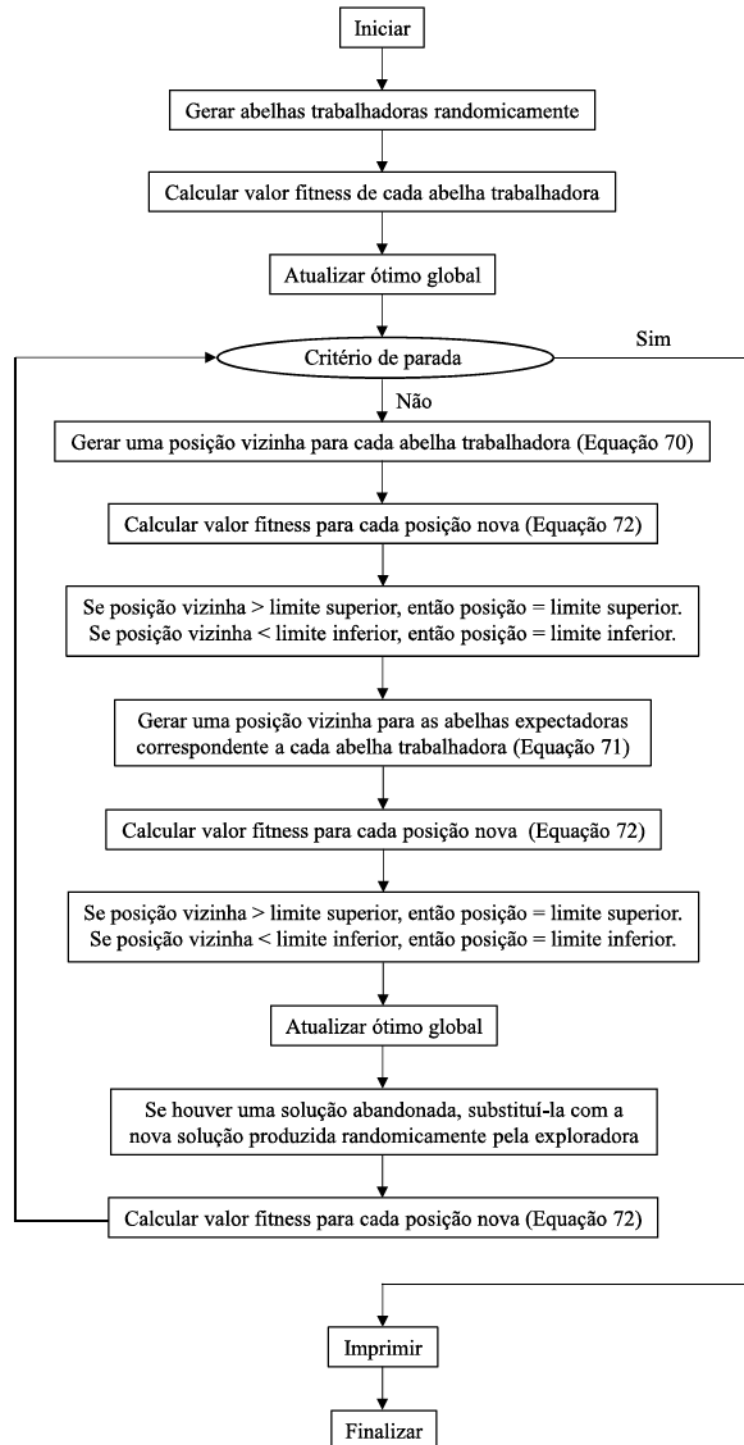


Figura 7 – Fluxograma do algoritmo Colônia Artificial de Abelhas utilizado para a otimização do processo de produção do xilitol (KARABOGA; BASTURK, 2007; KARABOGA et al., 2014)

O número de membros da população (NP) = 105 foi utilizado para resolver todos os estudos de caso por DE, PSO e ABC. Cálculos preliminares indicaram que este valor ofereceu uma boa compensação entre a eficiência e a confiabilidade desses otimizadores para resolver os estudos de caso reportados.

O critério de terminação para todos os três algoritmos foi o mesmo, ou seja, número máximo de iterações (NI) = 500. Finalmente, todos os estudos de caso foram resolvidos 10 vezes com valores iniciais aleatórios para as variáveis de decisão e os resultados médios foram utilizados para análise de dados de cada método estocástico.

3.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.2.1 Estudo de caso 1: Operação com alimentação única

Em primeiro lugar, os resultados obtidos considerando uma única corrente de alimentação contendo a solução de xilose e glicose são analisados nesta subseção. A taxa de alimentação e os perfis de concentração ótimos da biomassa, dos substratos e do produto em relação ao tempo de processo para a produção de xilitol utilizando DE, PSO e ABC estão ilustrados na Figura 8. Observe que esses perfis correspondem à configuração do processo em que o tempo de operação é fixo e a melhor execução de cada método de otimização é reportada.

É evidente que os algoritmos DE e PSO apresentaram perfis de alimentação e concentração idênticos em contraste com o ABC, o qual gerou diferentes padrões de processo para a taxa de alimentação e a concentração de xilitol (Figura 8). A análise estatística dos resultados obtidos com cada método estocástico é relatada na Tabela 6. Vale ressaltar que todos os cálculos de desvio padrão (s) apresentados nesta tese foram calculados de acordo com a seguinte equação:

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{(n-1)}} \quad (73)$$

Sendo x o valor de cada amostra, \bar{x} a média dos valores de todas as amostras e n o número de amostras.

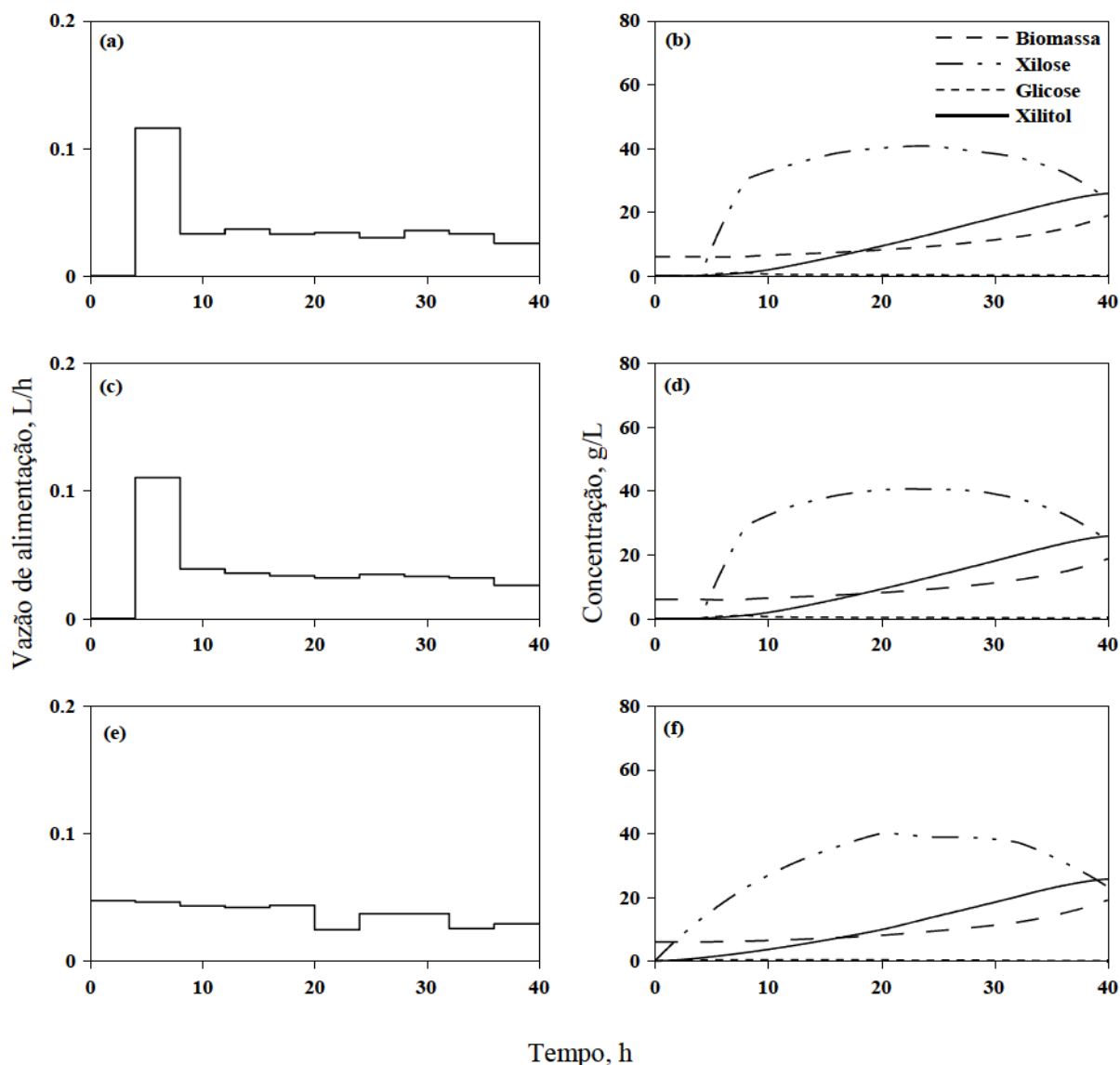


Figura 8 – Perfis ótimos de alimentação e concentração para a produção de xitol utilizando (a, b) DE, (c, d) PSO e (e, f) ABC. Caso de estudo 1: operação com alimentação única e tempo de processo fixo

Tabela 6 – Resultados da otimização do processo de produção de xitol utilizando DE, ABC, PSO e GA. Estudo de caso 1: operação com alimentação única e tempo de processo fixo

Metodo	Tempo final, h	Concentração final, g/L				Substrato adicionado, g		Rendimento xitol, g/g	Produtividade de xitol, g/h
		Biomassa	Xilose	Glicose	Xitol extracelular	Xilose	Glicose		
DE	40,00	18,67 ±0,17	24,47 ±0,42	0,06 ±0,00	25,80 ±0,00	299,97 ±0,15	30,00 ±0,01	0,34 ±0,00	2,58 ±0,00
PSO	40,00	18,67 ±0,07	24,27 ±0,23	0,06 ±0,00	25,79 ±0,01	300,11 ±0,17	30,01 ±0,02	0,34 ±0,00	2,58 ±0,00
ABC	40,00	18,76 ±0,69	24,54 ±1,52	0,05 ±0,01	25,54 ±0,11	300,00 ±0,05	30,00 ±0,00	0,34 ±0,00	2,55 ±0,01
GA*	40,00	18,20	25,30	0,08	25,59	300,00	30,00	0,34**	2,56

*Resultados reportados por Tochampa et al. (2015) utilizando Algoritmo Genético (GA)

**Rendimento calculado com dados reportados por Tochampa et al. (2015) e Equação 75.

Conforme anteriormente mencionado, o volume do reator foi tratado como uma restrição de igualdade durante a otimização global deste processo de fermentação e a formulação do problema dada pela Equação 64 foi utilizada para satisfazer esta restrição do processo.

Para fins de comparação, os resultados obtidos por Tochampa et al. (2015) na otimização deste processo sob as mesmas condições operacionais, mas usando o GA, foram apresentados na Tabela 6. Em geral, o DE e o PSO apresentaram o melhor desempenho para a otimização global dos perfis de alimentação e concentração da produção de xilitol. Estes métodos foram capazes de encontrar uma taxa de produção ligeiramente melhor do que GA. Inclusive, note-se que Tochampa et al. (2015) calculou o rendimento de xilitol de uma maneira diferente (isto é, pela Equação 74 abaixo). Especificamente, podem ser utilizadas duas abordagens para calcular o rendimento de xilitol, como se segue:

$$\text{Rendimento de xilitol} = \frac{(C_{xit}V_L)_{t_f}}{M_{xil\ ad} - (C_{xil}V_L)_{t_f}} \quad (74)$$

$$\text{Rendimento de xilitol} = \frac{(C_{xit}V_L)_{t_f}}{M_{xil\ ad}} \quad (75)$$

Sendo $M_{xil\ ad}$ a quantidade de xilose adicionada ao reator. A primeira abordagem considera que o xilitol produzido (e libertado pelas células) está relacionado com a xilose metabolizada pelas células que é dada pelo denominador da Equação 74, enquanto a segunda abordagem considera que a produção de xilitol está relacionada com a quantidade total de xilose introduzida no reator.

A Equação 75 foi utilizada para o cálculo dos resultados relatados neste estudo, ou seja, toda a alimentação de substrato no reator foi considerada para o cálculo do rendimento de xilitol sem subtrair qualquer quantidade residual presente no final do processo. Esta escolha foi tomada porque, caso a xilose utilizada não seja recuperada no final do processo, toda xilose inserida no reator é considerada como “custo” no processo. O rendimento de xilitol obtido a partir da melhor corrida do DE foi igual a 0,51 utilizando a Equação 74, que corresponde ao mesmo valor relatado por Tochampa et al. (2015) utilizando o algoritmo GA.

Para ilustração, o comportamento de convergência dos membros da população do DE, PSO e ABC é apresentado na Figura 9. Esses perfis mostram que o DE é capaz de melhorar o valor da função objetivo com menos esforço numérico que o PSO e o ABC.

Porém, comparando os dois, o PSO superou o ABC, o qual exigiu mais cálculos da função objetivo (NFE, do inglês, number of function evaluations) para poder melhorá-la. Em geral, o DE e o PSO possuem melhores estratégias de diversificação e intensificação que o ABC, podendo atingir uma alta precisão na solução obtida para este problema de fermentação (como pode ser visto com muito menos dispersão na Figura 9).

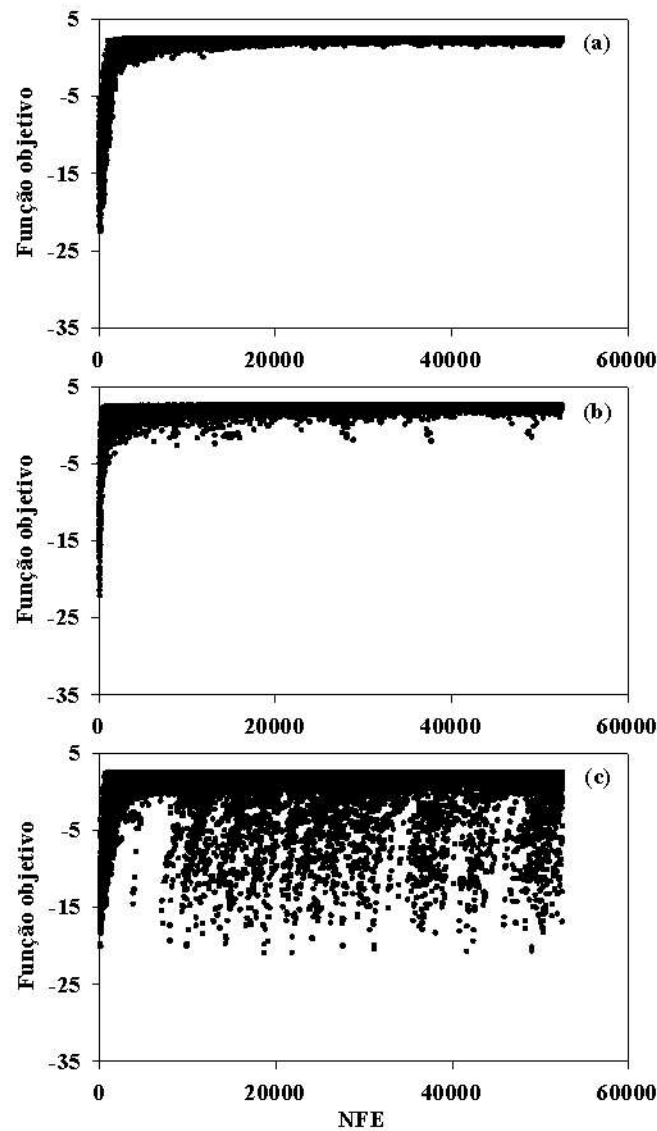


Figura 9 – Perfis de convergência de membros da população nas melhores séries de (a) DE, (b) PSO e (c) ABC na otimização global do processo de produção de xilitol: Caso de estudo 1 - operação com alimentação única e tempo de processo fixo

Os resultados para a otimização da produção de xilitol usando o tempo de operação como uma variável de decisão são relatados na Tabela 7. Novamente, tanto o DE quanto o PSO apresentaram o melhor desempenho para a minimização global da função objetivo, e encontraram melhor rendimento de xilitol e taxa de produção do que aqueles obtidos com

ABC neste cenário operacional. Os melhores perfis de alimentação e concentração para esta configuração de processo estão ilustrados na Figura 10.

Tabela 7 – Resultados da otimização do processo de produção de xilitol utilizando DE, ABC e PSO. Estudo de caso 1: operação com alimentação única e tempo de processo como variável de decisão

Metodo	Tempo final, h	Concentração final, g/L				Substrato adicionado, g		Rendimento xilitol, g/g	Produtividade de xilitol, g/h
		Biomassa	Xilose	Glicose	Xilitol extracelular	Xilose	Glicose		
DE	21,00 ±0,00	16,14 ±0,05	37,78 ±0,12	0,07 ±0,00	21,60 ±0,00	298,78 ±0,06	29,88 ±0,01	0,29 ±0,00	4,11 ±0,00
PSO	21,04 ±0,19	16,18 ±0,11	37,66 ±0,50	0,07 ±0,00	21,64 ±0,20	298,90 ±0,19	29,89 ±0,02	0,29 ±0,00	4,11 ±0,00
ABC	19,70 ±1,32	15,47 ±1,30	41,66 ±4,45	0,06 ±0,02	19,63 ±1,47	299,37 ±0,58	29,94 ±0,06	0,26 ±0,02	3,98 ±0,05

Os padrões de processo na Figura 10 mostram uma clara tendência no sistema de fermentação, em que uma taxa de alimentação mais alta aparece no início da operação. Esta tendência é provavelmente devido a uma exigência inicial de uma quantidade de substrato máxima para ser convertida no produto desejado. Porém, conforme observado, este comportamento não pode ser permanente devido à inibição do consumo pelas células causada através da elevada concentração de substrato no meio de cultura. Esta inibição de substrato foi descrita por Hunag et al. (2015). Eles analisaram a otimização da fermentação em batelada alimentada usando uma mistura de substratos (glicose e frutose) para produzir etanol, e relataram um perfil de taxa de alimentação semelhante (isto é, taxa de alimentação elevada no início do processo).

Resultados experimentais com alta taxa de alimentação no início do processo de fermentação com xilitol foram obtidos por Tochampa et al. (2015). Os perfis de concentração de biomassa, substratos e produto validam o comportamento do modelo mostrando que as produtividades de xilitol ótimas podem ser alcançadas com uma alimentação de substrato inicial elevada. Observe que no caso de grandes tempos de operação, essa taxa elevada deve ser mantida apenas no início do processo, para que o volume do reator não seja rapidamente preenchido afetando o suprimento contínuo do substrato. Consequentemente, a biomassa começaria a consumir o xilitol produzido para o crescimento e manutenção das células. Detalhes do metabolismo do xilitol foram relatados por Tochampa et al. (2005).

A partir destes resultados, é claro que a manipulação do tempo de operação como uma variável de otimização implica numa melhor taxa de produção. No entanto, o rendimento de xilitol diminuiu em comparação com as simulações realizadas com o tempo de processo

fixo (Tabela 6 e Tabela 7). Com base na necessidade de melhorar também esta variável (isto é, otimizá-la), este problema pode ser tratado como um problema de otimização multiobjetivo onde a otimização simultânea da produtividade e do rendimento de xilitol para este processo de fermentação deve ser realizada.

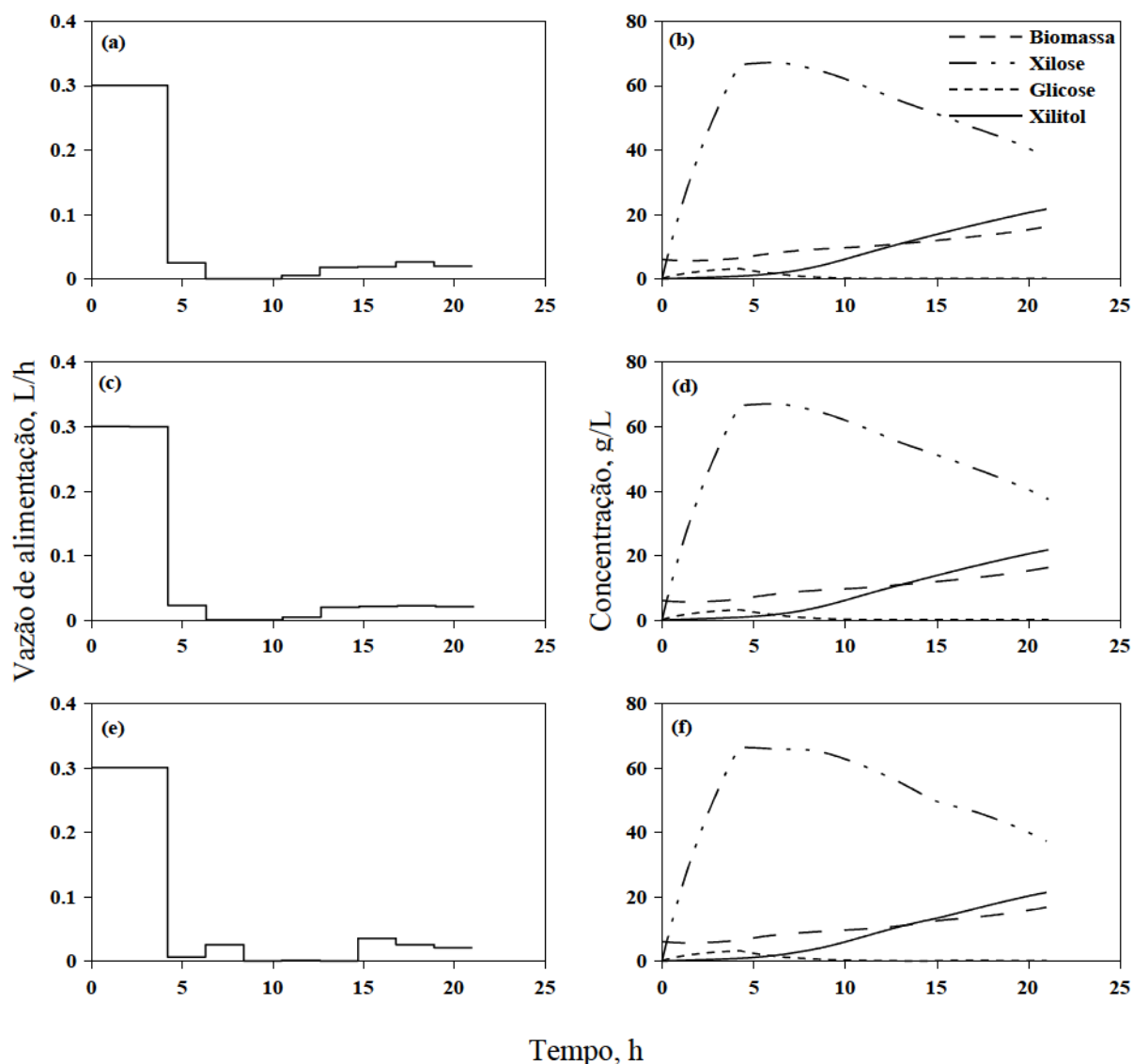


Figura 10 – Perfis ótimos de alimentação e concentração para a produção de xitol utilizando (a, b) DE, (c, d) PSO e (e, f) ABC. Caso de estudo 1: operação com alimentação única e tempo de processo como variável de decisão

3.2.2 Estudo de caso 2: Operação com alimentação dupla

Os resultados da otimização global utilizando DE, PSO e ABC para o Estudo de caso 2 com duas correntes de alimentação e considerando o tempo de fermentação fixo estão resumidos na Tabela 8. O rendimento e a taxa de produção de xilitol encontrados por DE e

PSO foram superiores aos obtidos por ABC. Em geral, esta configuração do processo (isto é, operação com alimentação dupla) melhora o desempenho do processo de fermentação, em comparação com a operação de alimentação única, proporcionando uma melhor taxa de produção mesmo com um tempo de operação fixo. Por exemplo, comparando esta configuração de processo com o Estudo de caso 1 utilizando o tempo de processo como uma variável de decisão (que é a melhor configuração do Estudo de caso 1 com base na análise de produtividade), o DE foi capaz de aumentar tanto o rendimento como a produtividade do xilitol em 24,1 e 6,3 %, respectivamente.

Tabela 8 – Resultados da otimização do processo de produção de xilitol utilizando DE, ABC e PSO. Estudo de caso 2: operação com alimentação dupla e tempo de processo fixo

Metodo	Tempo final, h	Concentração final, g/L				Substrato adicionado, g		Rendimento xilitol, g/g	Produtividade de xilitol, g/h
		Biomassa	Xilose	Glicose	Xilitol extracelular	Xilose	Glicose		
DE	20,00	19,12	21,79	0,14	21,87	240,54	59,73	0,36	4,37
		±0,23	±0,17	±0,00	±0,00	±0,46	±0,44	±0,00	±0,00
PSO	20,00	19,79	21,84	0,14	21,83	241,00	59,32	0,36	4,37
		±0,58	±0,26	±0,00	±0,06	±0,79	±0,60	±0,00	±0,01
ABC	20,00	19,90	22,18	0,12	20,61	236,61	63,39	0,35	4,12
		±1,28	±2,51	±0,02	±0,56	±8,27	±8,31	±0,01	±0,11

Além disso, enquanto Tochampa et al. (2015) obtiveram uma produtividade máxima de 4,01 g/h com o algoritmo GA para um processo com tempo otimizado de 20 horas e as mesmas vazões de 200 g/L em ambas as correntes de entrada, de xilose e de glicose; o algoritmo DE obteve uma produtividade de 4,37 g/L para um tempo fixado em 20 horas.

Em particular, este exemplo também é útil para ilustrar como o DE é um método robusto para a otimização global dos processos de fermentação. Ou seja, um método que seja confiável para encontrar a solução que se esteja buscando. A Figura 11 mostra os melhores perfis de vazão de alimentação e concentração obtidos dentre as 10 corridas executadas com DE, PSO e ABC, e a Figura 12 mostra os piores resultados para os algoritmos testados.

Para o caso do DE, as melhores e piores soluções dentre as 10 corridas forneceram quase os mesmos perfis de vazão de alimentação e concentração. Com relação ao PSO, os melhores e piores perfis de vazão de alimentação da corrente de glicose apresentaram algumas diferenças que, conseqüentemente, afetaram o perfil de concentração da biomassa, porém não surtiu efeito na produtividade final. No entanto, os perfis de vazão de alimentação obtidos pelo ABC variaram significativamente. Pode se observar, por exemplo, pela Tabela 8 como o desvio padrão da concentração final de xilitol e da produtividade dos resultados obtidos pelo algoritmo ABC supera em muito a dos obtidos pelo DE e PSO. Essa descoberta indica que o

DE e o PSO superaram o ABC em termos de qualidade (melhor produtividade) e sensibilidade (menor sensibilidade a mudanças nas variáveis) da solução em relação aos valores iniciais das variáveis de decisão e sequências de números aleatórios.

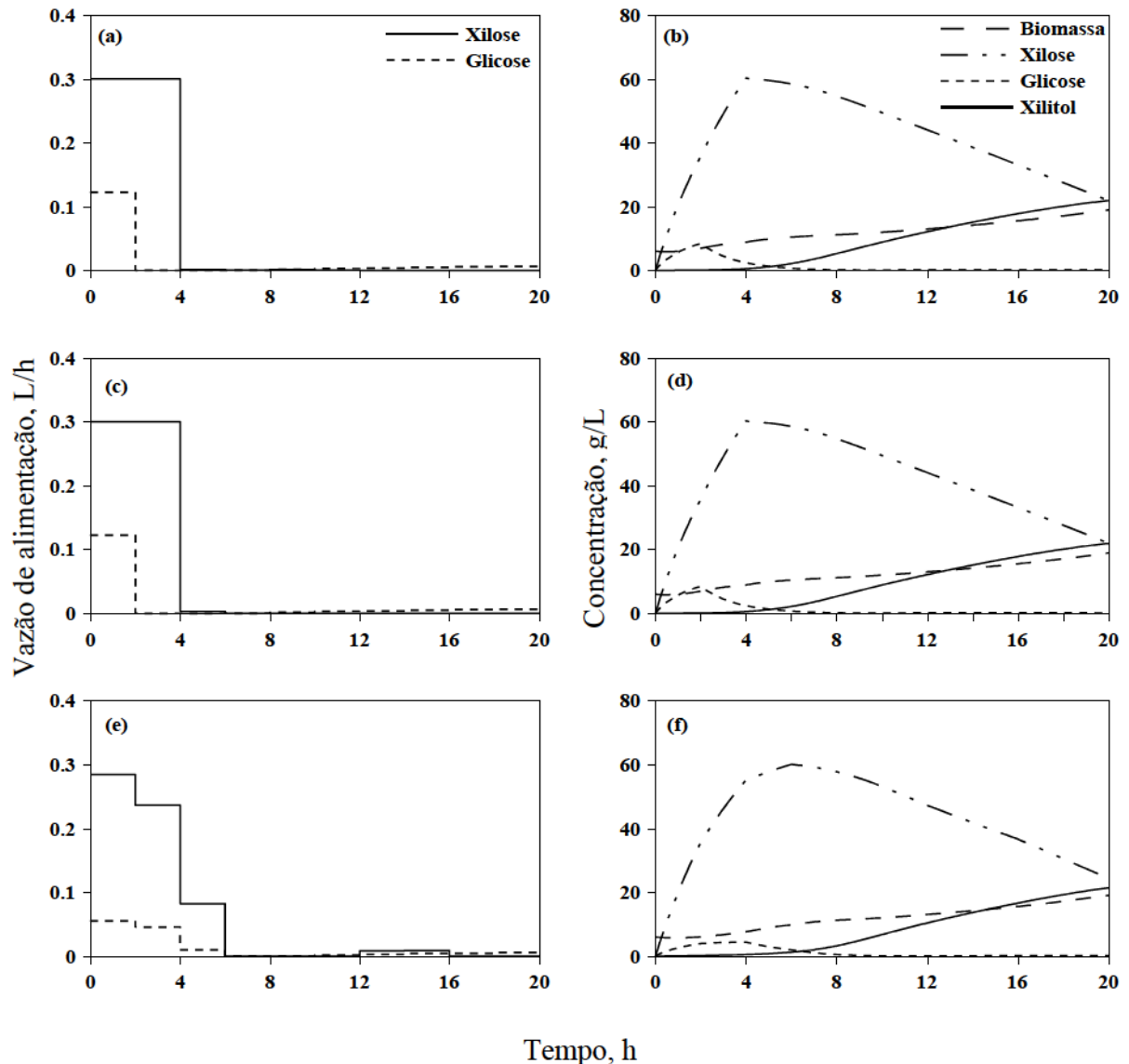


Figura 11 – Melhor solução para a vazão de alimentação e perfis de concentração na otimização da produção de xilitol utilizando (a, b) DE, (c, d) PSO e (e, f) ABC. Estudo de caso 2: operação com alimentação dupla e com tempo de processo fixo

Observou-se que os métodos estocásticos oferecem uma probabilidade (geralmente inferior a 100%) para encontrar o ótimo global de um problema em questão. Essa probabilidade depende do tipo de otimizador estocástico e da dificuldade do problema de otimização a ser resolvido. Embora o ABC tenha provado ser um método robusto para resolver outros problemas de otimização global (KARABOGA; BASTURK, 2008; KARABOGA; AKAY, 2009), os resultados relatados neste capítulo indicam que ele não é

confiável para a realização da otimização global do processo de produção de xilitol. Embora esta configuração de processo implica em 10 variáveis de decisão a mais do que no Estudo de caso 1, tanto o DE como o PSO foram capazes de realizar de forma confiável a otimização da vazão de alimentação e dos perfis de concentração deste bioprocessos.

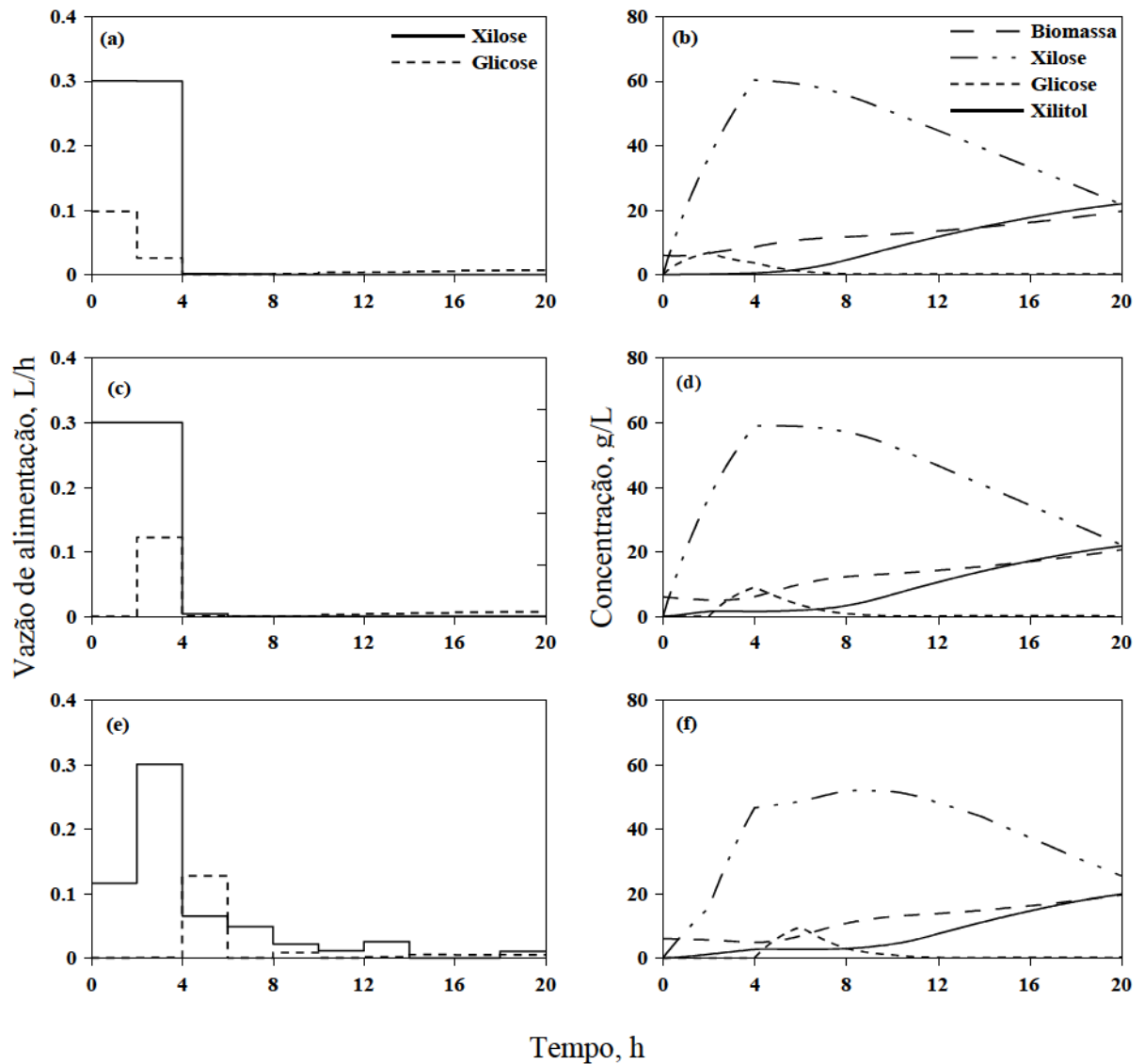


Figura 12 – Pior solução para a vazão de alimentação e perfis de concentração na otimização da produção de xilitol utilizando (a, b) DE, (c, d) PSO e (e, f) ABC. Estudo de caso 2: operação com alimentação dupla e com tempo de processo fixo

O modelo de fermentação para a produção de xilitol também é muito sensível a variações na vazão de alimentação de glicose. Comparando os melhores e piores perfis de vazão de alimentação obtidos pelo PSO ou ABC (Figura 11 (c) com Figura 12 (c) e Figura 11 (e) com Figura 12 (e)), observa-se diferenças no perfil de vazão de glicose nas primeiras 4 h de processo. Consequentemente, o perfil de concentração de xilitol resultante de cada uma

dessas diferentes vazões de entrada, também mudou no início do processo de fermentação. Estes perfis de processo provaram que no intervalo de tempo em que a alimentação de glicose é elevada, quase não há aumento na concentração de xilitol. Isso ocorre porque a absorção do outro substrato xilose é inibido pela presença da glicose. Portanto, para melhorar o desempenho do processo, a glicose não deve ser alimentada em grandes concentrações durante todo o intervalo de tempo do processo. Por outro lado, como já discutido na Introdução, os microrganismos podem usar uma fonte de carbono facilmente metabolizada (neste caso, a glicose) para gerar biomassa e energia, de modo que a maior parte do substrato xilose possa ser convertido em xilitol (TOCHAMPA et al. 2015). Este fato é também confirmado através do aumento da concentração de xilitol no meio de cultura após o consumo elevado da glicose, conforme observado pelos perfis de concentração nas Figura 11 e Figura 12. Observou-se que existe uma pequena alimentação de glicose, mas permanente em todas as vazões de alimentação, o que indica a sua relevância na operação de batelada alimentada. Portanto, embora a glicose tenha um efeito inibidor, suas baixas concentrações podem permitir o crescimento celular contínuo. A Tabela 9 relata os resultados para esta configuração de processo usando o tempo de processo como uma variável de decisão.

Tabela 9 – Resultados da otimização do processo de produção de xilitol utilizando DE, ABC e PSO. Estudo de caso 2: operação com alimentação dupla e tempo de processo como varável de decisão

Metodo	Tempo final, h	Concentração final, g/L				Substrato adicionado, g		Rendimento xilitol, g/g	Produtividade de xilitol, g/h
		Biomassa	Xilose	Glicose	Xilitol extracelular	Xilose	Glicose		
DE	13,13	19,31	24,92	0,11	15,56	205,05	94,92	0,30	4,74
	±0,07	±0,12	±0,27	±0,01	±0,08	±1,18	±1,16	±0,00	±0,00
PSO	13,20	19,35	24,90	0,11	15,63	205,21	94,09	0,30	4,74
	±0,12	±0,16	±0,23	±0,00	±0,15	±1,07	±1,35	±0,00	±0,00
ABC	12,28	19,31	24,88	0,09	13,50	192,35	106,84	0,28	4,40
	±1,22	±1,41	±3,26	±0,02	±1,38	±11,61	±11,73	±0,02	±0,09

No geral, todos os três algoritmos encontraram uma taxa de produção melhor do que aqueles obtidos com um tempo de operação fixo na Tabela 8. DE e PSO apresentaram um incremento de 8,5% na produtividade de xilitol, enquanto ABC melhorou em 6,8%. Com relação ao tempo de processo, este parâmetro foi reduzido em 34,3% utilizando o DE, 34,0% com o PSO e 38,6% com o ABC. Este resultado mostra que o controle dos substratos em correntes de alimentação separadas tem um impacto positivo na produtividade do problema de otimização do processo de fermentação. No entanto, o rendimento de xilitol diminuiu 16,7% usando tanto o DE como o PSO e 20,0% com o ABC (Tabela 9). Estes resultados confirmam novamente que tanto a produtividade como o rendimento do xilitol são alvos conflitantes.

Para esta última configuração com duas alimentações e tempo de processo variável, as melhores e piores soluções encontradas por DE, PSO e ABC são relatadas nas Figura 13 e Figura 14, respectivamente.

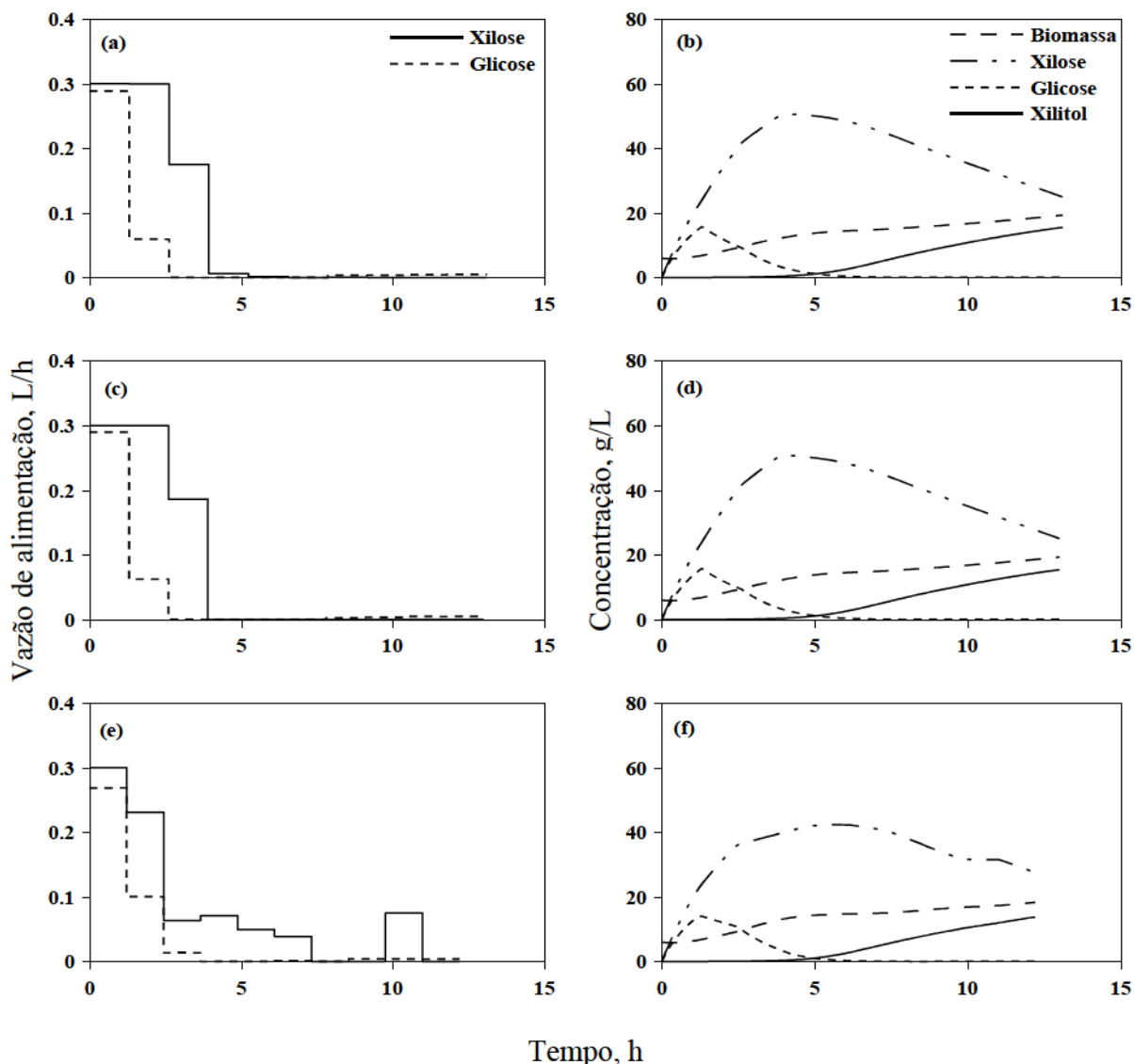


Figura 13 – Melhor solução para a vazão de alimentação e perfis de concentração na otimização da produção de xilitol utilizando (a, b) DE, (c, d) PSO e (e, f) ABC. Estudo de caso 2: operação com alimentação dupla e com tempo de processo como variável de decisão

Mais uma vez, o DE e o PSO superaram o ABC em termos de confiabilidade para a otimização da produção de xilitol. Ao comparar as Figura 13 e Figura 14, observa-se que a vazão de alimentação e os perfis de concentração do DE e do PSO para as melhores e piores soluções são muito semelhantes, enquanto que os perfis de vazão de alimentação de substrato encontrados pelo ABC diferem significativamente, causando um maior impacto no perfil de concentração da biomassa.

Estes resultados confirmam que o ABC tem o pior desempenho dos métodos estocásticos testados. Ou seja, para todas as configurações de processo mencionadas, o algoritmo ABC apresentou os piores resultados de produtividade, não alcançando claramente o ótimo global em se tratando do valor da função objetiva. Ele também é o método menos confiável, uma vez que, para todas as configurações de processo estudadas, apresentou também maiores desvios padrões nos resultados de produtividade.

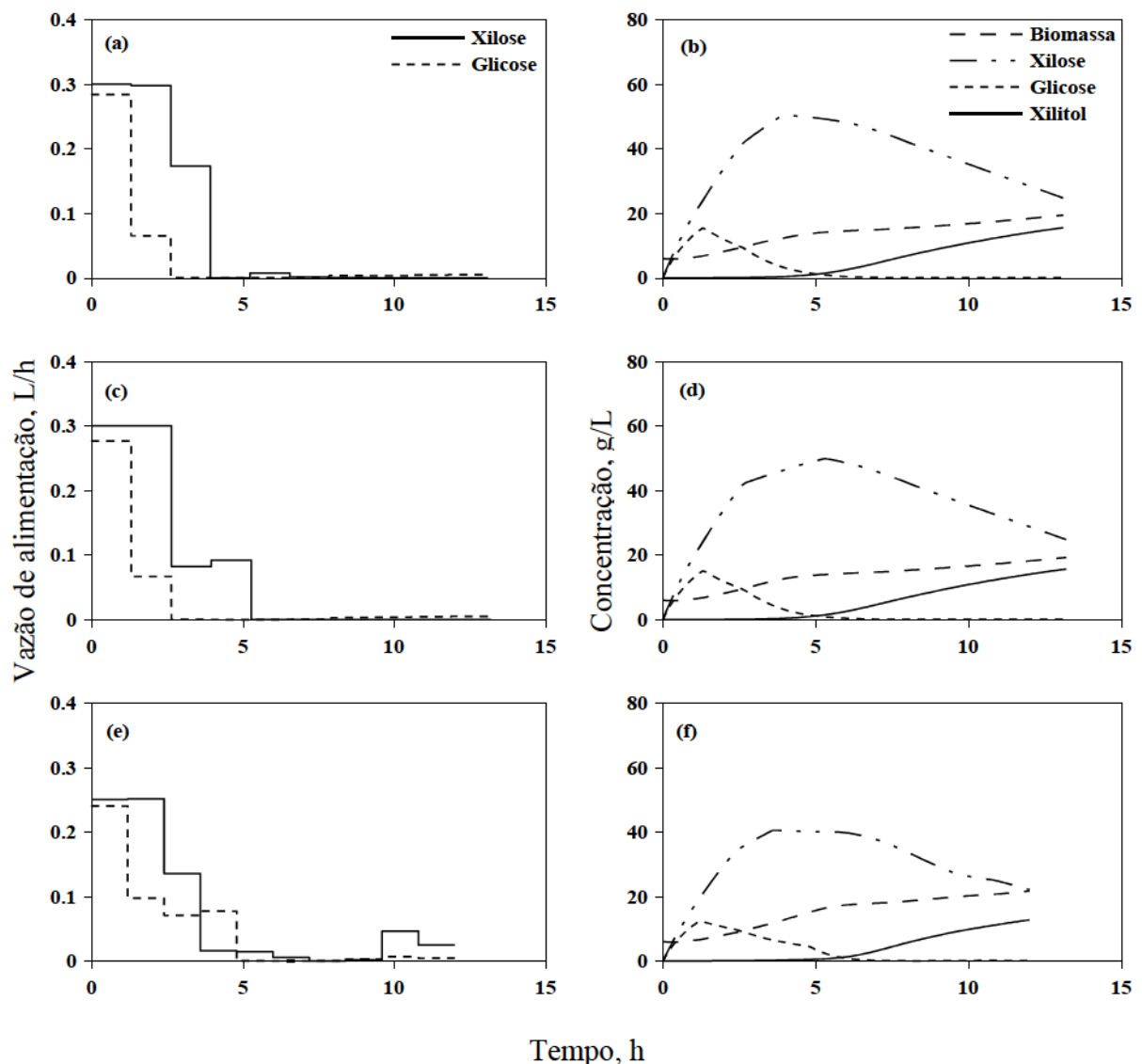


Figura 14 – Pior solução para a vazão de alimentação e perfis de concentração na otimização da produção de xilitol utilizando (a, b) DE, (c, d) PSO e (e, f) ABC. Estudo de caso 2: operação com alimentação dupla e com tempo de processo como variável de decisão

Este capítulo se encerra com a discussão dos valores da função de penalidade versus o NFE durante a busca de otimização de cada algoritmo referente à última configuração, apresentados na Figura 15.

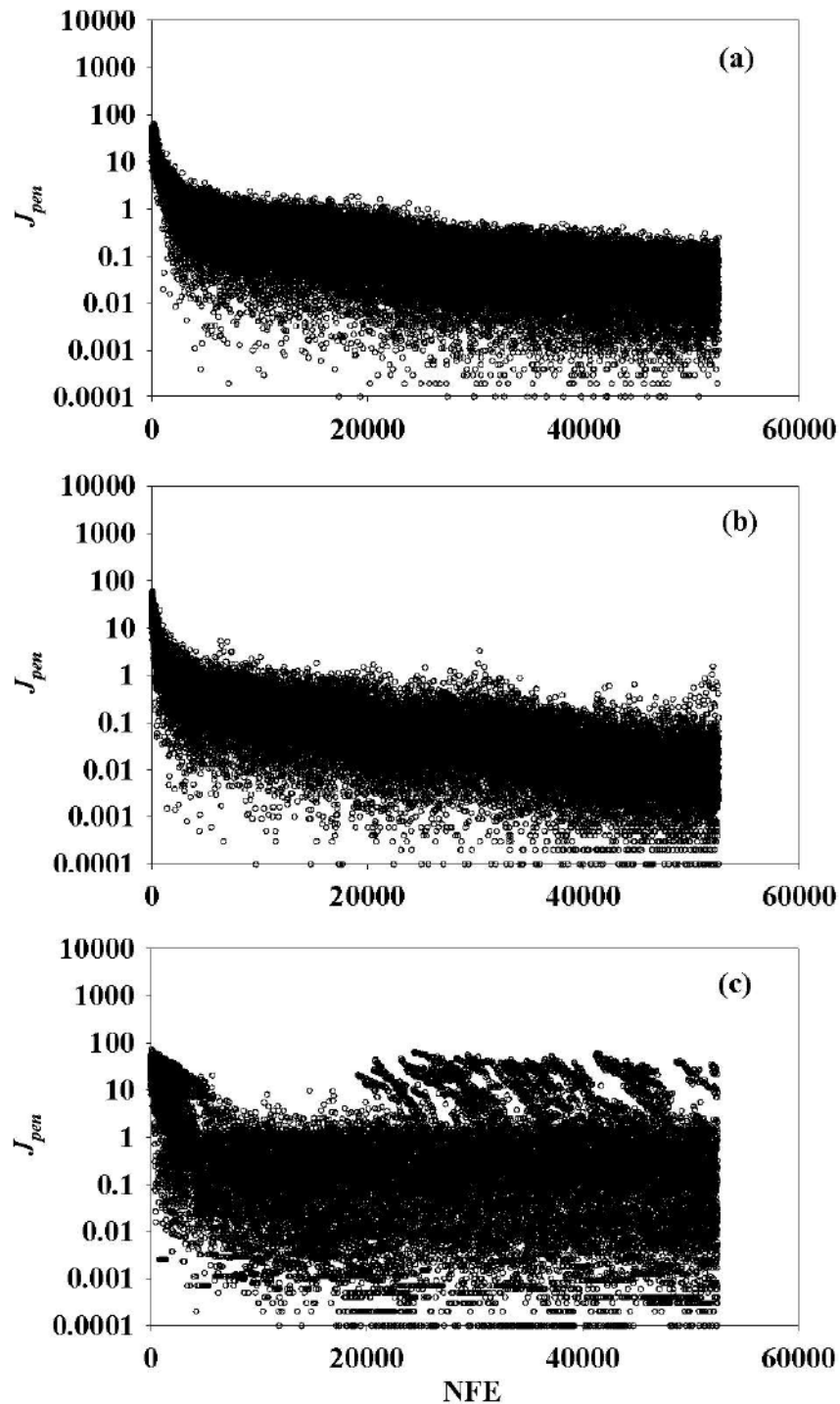


Figura 15 – Valor da função de penalização (J_{pen}) em relação ao número de funções calculadas (NFE) das melhores corridas com (a) DE, (b) PSO e (c) ABC no processo de otimização da produção de xilitol: Estudo de caso 2 com o tempo de processo como variável de decisão

Conforme mencionado na metodologia deste capítulo, a otimização do problema de produção de xilitol foi formulada utilizando a abordagem da função de penalização. Os métodos estocásticos testados têm capacidades diferentes para manipulação de soluções inviáveis durante a otimização global. Em se tratando deste estudo, uma solução inviável seria

uma em que o volume do reator ultrapassasse a sua capacidade máxima de 4 L. Conforme demonstrado pela Equação 64, o valor da penalização é dado por cinco vezes o valor entre a diferença do volume máximo e do volume calculado, quando este ultrapassa a sua capacidade máxima.

É claro que, conforme observado pela Figura 15, tanto o DE como o PSO apresentaram o melhor desempenho para lidar com a restrição no volume do reator. Por outro lado, o ABC gerou várias soluções fora da região viável do problema de otimização. Ou seja, quando se observa a Figura 15c, referente aos resultados do ABC, percebe-se que, ao longo do número de vezes que a função objetivo é calculada e onde, teoricamente, deveria de se estar mais próximo do ótimo global, ainda se encontram valores altos de penalização, ou seja, o algoritmo ainda busca soluções muito distantes do ótimo global.

Na verdade, o DE e o PSO têm melhor desempenho numérico para explorar e intensificar a busca, e eles são mais eficazes do que o ABC para escapar da região inviável e localizar o ótimo global.

3.3 CONSIDERAÇÕES PARCIAIS

Este capítulo ilustra o desempenho dos algoritmos DE, PSO e ABC para a otimização global de um bioprocessamento utilizando as vazões de substrato como variáveis de controle em um processo batelada alimentada. Em geral, os resultados demonstraram que o algoritmo DE é um método confiável para a otimização dinâmica da produção de xilitol em um processo de fermentação em batelada alimentada, e que o mesmo pode superar os algoritmos PSO e ABC.

Os resultados também demonstraram o efeito do controle da adição de glicose no meio de cultura. Este substrato deve ser suficiente para fornecer energia para os microrganismos e não pode exceder um limite que gera um efeito de inibição do substrato. O controle da adição de glicose para otimizar a produção de xilitol relaciona esse estudo de caso ao problema de glicerólise, discutido no próximo capítulo, no qual se busca o controle da vazão de alimentação do substrato, para controlar o efeito inibitório que este pode causar nas enzimas para produção de acilgliceróis.

4 CAPÍTULO 4 – CONTROLE ÓTIMO DA PRODUÇÃO DE ACILGLICERÓIS

Considerando o sucesso do desempenho do algoritmo estocástico DE no controle ótimo de biorreatores, o mesmo foi utilizado neste estudo da produção de acilgliceróis. Este capítulo é organizado da seguinte forma: no subitem 4.1 são apresentados os materiais e métodos que incluem a descrição dos diferentes modelos e processos de produção de acilgliceróis estudados; e, no subitem 4.2 estão apresentados todos os resultados e discussões dos respectivos processos estudados.

4.1 METODOLOGIA

Todos os modelos estudados foram implementados em plataforma MATLAB (MATHWORKS, 2000). O sistema de equações diferenciais ordinárias que representam as reações para produção em batelada alimentada dos acilgliceróis foi resolvido usando um método implícito para sistemas rígidos, que está disponível no código ode23s do MATLAB (ASHINO et al., 2000).

Considerando o sucesso do desempenho do algoritmo estocástico DE no controle ótimo de biorreatores, conforme apresentado no Capítulo 3, o mesmo foi escolhido como otimizador no estudo da produção de acilgliceróis.

Para todos os casos apresentados neste capítulo, utilizou-se a estratégias de controle ótimo CVP. Considerou-se, portanto, o tempo final discretizado em 10 períodos iguais e, para cada janela de tempo, a taxa de alimentação foi considerada como uma variável de otimização. Ou seja, independente do modelo e teste realizado, foram sempre manipuladas 10 variáveis de decisão.

Considerou-se $NP = 50$, que representa 5 vezes o número de variáveis de otimização. Da mesma forma, no estudo de otimização da produção de xilitol, considerou-se que o NP fosse 5 vezes o número dos 21 parâmetros de otimização do Estudo de caso 2 com tempo de processo como variável de decisão. Como critério de terminação, também se manteve o $NI = 500$, conforme valor anteriormente tido como confiável. Os parâmetros do algoritmo DE utilizados são os mesmos apresentados na Tabela 5. Finalmente, todos os casos estudados neste capítulo foram resolvidos 10 vezes com valores iniciais aleatórios para as variáveis de decisão.

Até o momento foram estudados dois diferentes sistemas para produção de acilgliceróis. Um no qual a reação de glicerólise ocorre na presença de n-butano comprimido

e surfatante sulfosuccinato (Aerosol – OT ou AOT). No outro caso, a reação de glicerólise ocorre em sistema com solvente terc-butanol. Ambos os modelos e a formulação do problema de otimização de cada sistema são apresentados nos subitens 4.1.1 e 4.1.2.

4.1.1 Glicerólise na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT

Os parâmetros do modelo de Voll et al. (2011) foram ajustados para representar os dados experimentais de Valério et. al. (2009a). Os experimentos tratam da produção em batelada de MAG e DAG na presença de n-butano comprimido e surfatante AOT através da glicerólise do óleo de oliva catalisada por lipases comerciais Novozym 435 imobilizadas (VALÉRIO et. al., 2009a).

Para o cálculo do ajuste foi utilizado o algoritmo Simplex disponível no código fminsearch do MATLAB (MATHWORKS, 2000). O algoritmo estocástico PSO foi utilizado para perturbar algumas estimativas iniciais (KENNEDY; EBERHARD, 1995; SCHWAAB et al., 2008; EBERHARD; KENNEDY, 1995). As equações diferenciais foram resolvidas pelo método implícito para sistemas rígidos, disponível no código ode23s do MATLAB (ASHINO et al., 2000; MATHWORKS, 2000).

Além de ter seus parâmetros ajustados, o modelo de Voll et al. (2011) também teve o acréscimo de termos que consideram a variação dos componentes do sistema em função da alimentação de substrato em um processo que opera em batelada alimentada. Isso porque o sistema de equações diferenciais de Voll et al. (2011) consideram um processo em operação batelada e essa tese estuda a vazão de alimentação do substrato ao longo do tempo de processo.

Sendo assim, esse modelo ajustado é representado pelas equações 76 a 84. As Equações 76 a 81 representam as taxas de reação de cada componente no sistema.

$$\frac{d[TAG]}{dt} = [E_{at}] \cdot \frac{\left(-V_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + V_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] - V_3 \cdot [TAG] \cdot [MAG] + V_6 \cdot [DAG]^2 - V_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + V_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] \right)}{\left(1 + K_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + K_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] + K_3 \cdot [DAG] \cdot [G] + K_4 \cdot [MAG]^2 + K_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] + K_6 \cdot [DAG]^2 + K_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + K_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] + K_9 \cdot [DAG] \cdot [W] + K_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] + K_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + K_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \right)} - \frac{m_{entra} \cdot [TAG]}{m_T} \quad (76)$$

$$\frac{d[DAG]}{dt} = [E_{at}] \cdot \frac{\left(\begin{aligned} &V_1 \cdot [TAG] \cdot [G] - V_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] - V_3 \cdot [DAG] \cdot [G] \\ &+ V_4 \cdot [MAG]^2 + 2 \cdot V_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] - 2 \cdot V_6 \cdot [DAG]^2 \\ &+ V_7 \cdot [TAG] \cdot [W] - V_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] \\ &- V_9 \cdot [DAG] \cdot [W] + V_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)}{\left(\begin{aligned} &1 + K_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + K_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] + K_3 \cdot [DAG] \cdot [G] \\ &+ K_4 \cdot [MAG]^2 + K_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] + K_6 \cdot [DAG]^2 \\ &+ K_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + K_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] + K_9 \cdot [DAG] \cdot [W] \\ &+ K_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] + K_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + K_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)} \quad (77)$$

$$- \frac{m_{entra} \cdot [DAG]}{m_T}$$

$$\frac{d[MAG]}{dt} = [E_{at}] \cdot \frac{\left(\begin{aligned} &V_1 \cdot [TAG] \cdot [G] - V_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] - V_3 \cdot [DAG] \cdot [G] \\ &- 2 \cdot V_4 \cdot [MAG]^2 - V_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] + V_6 \cdot [DAG]^2 \\ &+ V_9 \cdot [DAG] \cdot [W] - V_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] \\ &- V_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + V_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)}{\left(\begin{aligned} &1 + K_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + K_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] + K_3 \cdot [DAG] \cdot [G] \\ &+ K_4 \cdot [MAG]^2 + K_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] + K_6 \cdot [DAG]^2 \\ &+ K_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + K_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] + K_9 \cdot [DAG] \cdot [W] \\ &+ K_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] + K_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + K_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)} \quad (78)$$

$$- \frac{m_{entra} \cdot [MAG]}{m_T}$$

$$\frac{d[FFA]}{dt} = [E_{at}] \cdot \frac{\left(\begin{aligned} &+ V_7 \cdot [TAG] \cdot [W] - V_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] + V_9 \cdot [DAG] \cdot [W] \\ &- V_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] + V_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] - V_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)}{\left(\begin{aligned} &1 + K_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + K_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] + K_3 \cdot [DAG] \cdot [G] \\ &+ K_4 \cdot [MAG]^2 + K_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] + K_6 \cdot [DAG]^2 \\ &+ K_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + K_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] + K_9 \cdot [DAG] \cdot [W] \\ &+ K_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] + K_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + K_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)} \quad (79)$$

$$- \frac{m_{entra} \cdot [FFA]}{m_T}$$

$$\frac{d[G]}{dt} = [E_{at}] \cdot \frac{\left(\begin{aligned} &-V_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + V_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] - V_3 \cdot [DAG] \cdot [G] \\ &+ V_4 \cdot [MAG]^2 + V_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] - V_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)}{\left(\begin{aligned} &1 + K_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + K_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] + K_3 \cdot [DAG] \cdot [G] \\ &+ K_4 \cdot [MAG]^2 + K_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] + K_6 \cdot [DAG]^2 \\ &+ K_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + K_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] + K_9 \cdot [DAG] \cdot [W] \\ &+ K_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] + K_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + K_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)} - \frac{m_{entra} \cdot [G]}{m_T} \quad (80)$$

$$+ \frac{m_{entra} \cdot f_G \cdot G_{entra}}{m_T}$$

$$\frac{d[W]}{dt} = [E_{at}] \frac{\left(\begin{aligned} &-V_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + V_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] - V_9 \cdot [DAG] \cdot [W] \\ &+ V_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] - V_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + V_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)}{\left(\begin{aligned} &1 + K_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + K_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] + K_3 \cdot [DAG] \cdot [G] \\ &+ K_4 \cdot [MAG]^2 + K_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] + K_6 \cdot [DAG]^2 \\ &+ K_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + K_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] + K_9 \cdot [DAG] \cdot [W] \\ &+ K_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] + K_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + K_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)} - \frac{m_{entra} \cdot [W]}{m_T} \quad (81)$$

$$+ \frac{m_{entra} \cdot f_W \cdot W_{entra}}{m_T}$$

Em que, $[TAG]$, $[DAG]$, $[MAG]$, $[FFA]$, $[G]$ e $[W]$, são as concentrações (mmol/g substrato) de TAG, DAG, MAG, ácidos graxos livres, glicerol e água, respectivamente, $[E_{at}]$ é a concentração total de enzimas ativas (g enzimas/g substrato), t é o tempo (min), m_{entra} é a massa de substrato adicionada pela corrente de entrada (g substrato/min.), m_T é a massa total no interior do biorreator (g), f_G e f_W são as frações de glicerol e água na corrente de entrada, respectivamente, e G_{entra} e W_{entra} são as concentrações molares de glicerol (mmol/g glicerol) e água (mmol/g água), respectivamente.

A Equação 82 representa a variação da massa no interior do reator, a qual corresponde diretamente à massa adicionada pela corrente de entrada do reator.

$$\frac{dm_T}{dt} = m_{entra} \quad (82)$$

Na abordagem de glicerólise enzimática de Voll et al. (2011), o parâmetro de inibição da reação pelo glicerol (parâmetro q da Equação 83) foi ajustado com outro termo que leva em consideração as enzimas disponíveis no sistema (Equação 84).

$$\frac{da}{dt} = -kd \cdot a^n \cdot [G]^q \quad (83)$$

$$[E_{at}] = [ET] \cdot a \cdot e^{(-kd2[ET])} \quad (84)$$

Em que, $[ET]$ é a concentração total de enzimas (g enzimas/g substrato), a é a atividade enzimática relativa, kd é a constante de desativação ((min mmol glicerol)⁻¹), n é a ordem de desativação relacionada à atividade, q é a ordem de desativação relacionada a concentração de glicerol e $kd2$ é um fator de correção que leva em consideração os fenômenos limitantes ocasionados pelo excesso de enzimas no meio (g substrato/g enzimas). Em sistemas

reais, o excesso da concentração de enzima no meio reacional pode resultar na formação de agregados, de maneira a não possibilitar o contato dos sítios ativos com os substratos (WATANABE et al., 2003). Os valores dos parâmetros do modelo ajustado para este trabalho estão apresentados na Tabela 10 e na Tabela 11.

Tabela 10 – Parâmetros das equações de taxas de reação para representar a glicerólise do óleo de oliva na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT

<i>i</i>	<i>K_i</i> (g substrato ² /mmol ²)	<i>V_i</i> (g substrato ² /(g enzima min mmol))
1	34,235 × 10 ³	1580,6
2	28,828 × 10 ⁻⁴	14,168
3	10,518 × 10 ¹	54,340 × 10 ⁴
4	13,433 × 10 ⁻⁵	9,778
5	87,476 × 10 ⁻²	51,014 × 10 ⁴
6	15,259 × 10 ¹	78,120 × 10 ⁵
7	0	0
8	0	0
9	0	0
10	0	0
11	0	0
12	0	0

Tabela 11 – Parâmetros de desativação enzimática ajustados para representar a glicerólise do óleo de oliva em n-butano comprimido e surfatante AOT

<i>kd</i> (min mmol glicerol) ⁻¹	<i>kd2</i> (g substrato g enzima ⁻¹)	<i>n</i>	<i>q</i>
4,36 × 10 ⁻²	13,35	1	8,07 × 10 ⁻²

Para este modelo foram utilizados dois objetivos distintos. Um deles definido pela maximização da produção exclusiva de MAG, conforme Equação 85. No outro, buscou-se as melhores vazões de alimentação de substrato para maximizar a produção de ambos acilgliceróis, DAG e MAG, de acordo com a Equação 86. Ambas as funções objetivo (Equação 85 e 86), no entanto, foram formuladas de forma a evitar o excesso do consumo de glicerol.

$$Função\ objetivo_a = \max \left\{ \frac{[MAG]}{I+[G]} \right\} \quad (85)$$

$$Função\ objetivo_b = \max \left\{ \frac{[DAG]+[MAG]}{I+[G]} \right\} \quad (86)$$

A Figura 16 apresenta os diagramas dos biorreatores utilizados para a reação de glicerólise na presença de n-butano/AOT para ambas as funções objetivos.

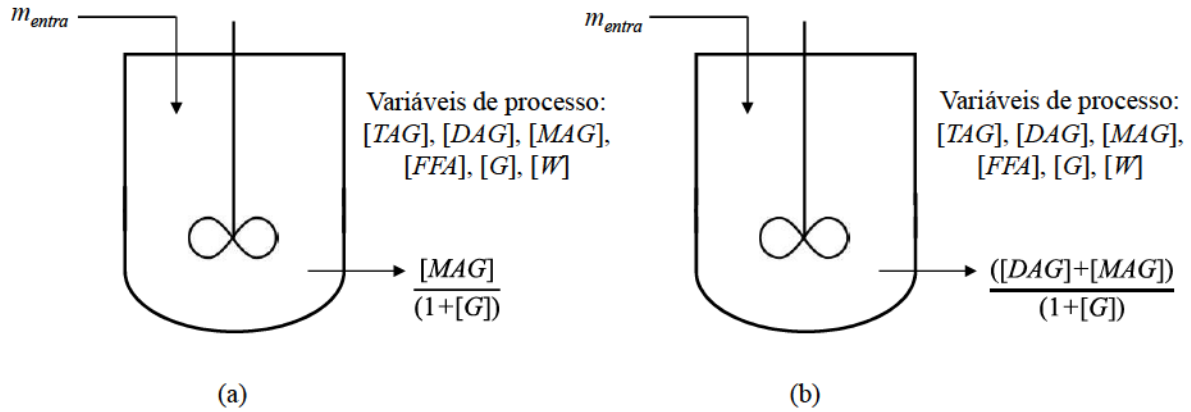


Figura 16 – Diagramas dos biorreatores utilizados para a reação de glicerólise na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT para a produção de (a) MAG, e (b) DAG e MAG

Para o estudo da otimização deste processo, independentemente da função objetivo estudada, foram consideradas as seguintes condições: razão molar inicial de glicerol para óleo de 1,2:1; teor inicial de enzima de 7,5 % em relação a massa total dos substratos iniciais (óleo e glicerol), tempo de processo de 360 min e temperatura de 70°C. Em relação aos limites inferior e superior das vazões de alimentação de glicerol, estes foram estabelecidos em $1,0 \times 10^{-5}$ e 1 g/min., respectivamente, para o caso da maximização da soma de ambos acilgliceróis e $1,0 \times 10^{-6}$ e 1 g/min., respectivamente, para o caso da maximização da exclusiva de MAG.

4.1.2 Glicerólise na presença de solvente terc-butanol

Para a otimização do processo de glicerólise na presença de solvente terc-butanol, foi utilizado o modelo de Voll et al. (2011), o qual inclui também as etapas de hidrólise e esterificação. As Equações 87 a 92 representam as taxas de reações do TAG, DAG, MAG, FFA, G e W, respectivamente. A Equação 93 apresenta a perda da atividade enzimática, cujos parâmetros cinéticos ajustados estão apresentados na Tabela 12. A variação da massa no interior do reator é apresentada pela Equação 94.

$$\frac{d[TAG]}{dt} = a \cdot ET \cdot \frac{\left(\begin{aligned} &-V_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + V_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] - V_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] \\ &+ V_6 \cdot [DAG]^2 - V_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + V_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)}{\left(\begin{aligned} &1 + K_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + K_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] + K_3 \cdot [DAG] \cdot [G] \\ &+ K_4 \cdot [MAG]^2 + K_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] + K_6 \cdot [DAG]^2 \\ &+ K_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + K_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] + K_9 \cdot [DAG] \cdot [W] \\ &+ K_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] + K_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + K_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)} \quad (87)$$

$$- \frac{m_{entra} \cdot [TAG]}{m_T}$$

$$\frac{d[DAG]}{dt} = a \cdot ET \cdot \frac{\left(\begin{aligned} &V_1 \cdot [TAG] \cdot [G] - V_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] - V_3 \cdot [DAG] \cdot [G] \\ &+ V_4 \cdot [MAG]^2 + 2 \cdot V_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] - 2 \cdot V_6 \cdot [DAG]^2 \\ &+ V_7 \cdot [TAG] \cdot [W] - V_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] \\ &- V_9 \cdot [DAG] \cdot [W] + V_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)}{\left(\begin{aligned} &1 + K_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + K_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] + K_3 \cdot [DAG] \cdot [G] \\ &+ K_4 \cdot [MAG]^2 + K_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] + K_6 \cdot [DAG]^2 \\ &+ K_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + K_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] + K_9 \cdot [DAG] \cdot [W] \\ &+ K_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] + K_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + K_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)} \quad (88)$$

$$- \frac{m_{entra} \cdot [DAG]}{m_T}$$

$$\frac{d[MAG]}{dt} = a \cdot ET \cdot \frac{\left(\begin{aligned} &V_1 \cdot [TAG] \cdot [G] - V_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] - V_3 \cdot [DAG] \cdot [G] \\ &- 2 \cdot V_4 \cdot [MAG]^2 - V_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] + V_6 \cdot [DAG]^2 \\ &+ V_9 \cdot [DAG] \cdot [W] - V_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] \\ &- V_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + V_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)}{\left(\begin{aligned} &1 + K_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + K_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] + K_3 \cdot [DAG] \cdot [G] \\ &+ K_4 \cdot [MAG]^2 + K_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] + K_6 \cdot [DAG]^2 \\ &+ K_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + K_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] + K_9 \cdot [DAG] \cdot [W] \\ &+ K_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] + K_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + K_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)} \quad (89)$$

$$- \frac{m_{entra} \cdot [MAG]}{m_T}$$

$$\frac{d[FFA]}{dt} = a \cdot ET \cdot \frac{\left(\begin{aligned} &+ V_7 \cdot [TAG] \cdot [W] - V_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] + V_9 \cdot [DAG] \cdot [W] \\ &- V_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] + V_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] - V_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)}{\left(\begin{aligned} &1 + K_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + K_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] + K_3 \cdot [DAG] \cdot [G] \\ &+ K_4 \cdot [MAG]^2 + K_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] + K_6 \cdot [DAG]^2 \\ &+ K_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + K_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] + K_9 \cdot [DAG] \cdot [W] \\ &+ K_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] + K_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + K_{12} \cdot [G] \cdot [FFA] \end{aligned} \right)} \quad (90)$$

$$- \frac{m_{entra} \cdot [FFA]}{m_T}$$

$$\frac{d[G]}{dt} = a \cdot ET \cdot \frac{\left(-V_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + V_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] - V_3 \cdot [DAG] \cdot [G] \right) + V_4 \cdot [MAG]^2 + V_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] - V_{12} \cdot [G] \cdot [FFA]}{\left(1 + K_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + K_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] + K_3 \cdot [DAG] \cdot [G] \right) + K_4 \cdot [MAG]^2 + K_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] + K_6 \cdot [DAG]^2 + K_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + K_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] + K_9 \cdot [DAG] \cdot [W] + K_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] + K_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + K_{12} \cdot [G] \cdot [FFA]} - \frac{m_{entra} \cdot [G]}{m_T} + \frac{m_{entra} \cdot f_G \cdot G_{entra}}{m_T} \quad (91)$$

$$\frac{d[W]}{dt} = a \cdot ET \cdot \frac{\left(-V_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + V_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] - V_9 \cdot [DAG] \cdot [W] \right) + V_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] - V_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + V_{12} \cdot [G] \cdot [FFA]}{\left(1 + K_1 \cdot [TAG] \cdot [G] + K_2 \cdot [MAG] \cdot [DAG] + K_3 \cdot [DAG] \cdot [G] \right) + K_4 \cdot [MAG]^2 + K_5 \cdot [TAG] \cdot [MAG] + K_6 \cdot [DAG]^2 + K_7 \cdot [TAG] \cdot [W] + K_8 \cdot [DAG] \cdot [FFA] + K_9 \cdot [DAG] \cdot [W] + K_{10} \cdot [MAG] \cdot [FFA] + K_{11} \cdot [MAG] \cdot [W] + K_{12} \cdot [G] \cdot [FFA]} - \frac{m_{entra} \cdot [W]}{m_T} + \frac{m_{entra} \cdot f_W \cdot W_{entra}}{m_T} \quad (92)$$

$$\frac{da}{dt} = -kd \cdot a^n \cdot [G]^q \quad (93)$$

$$\frac{dm_T}{dt} = m_{entra} \quad (94)$$

Tabela 12 – Parâmetros da literatura para o modelo cinético (equação de desativação) da glicerólise do óleo de oliva catalisada pela Novozym 435 na presença do solvente terc-butanol (VOLL et al., 2011)

kd (min mmol glicerol) ⁻¹	n	q
$1,11 \times 10^{-2}$	2	1

Para representar a sensibilidade da glicerólise em relação à temperatura, as constantes de taxa aparente foram calculadas por uma expressão do tipo Arrhenius:

$$V_i = A_i \cdot \exp\left(-\frac{E_{ai}}{T}\right), \quad i = 1, \dots, 12 \quad (95)$$

Em que A_i representa os fatores pré-exponenciais (g substrato²/g enzima min mmol); E_{ai} , os parâmetros de energia (K) e T , a temperatura (K).

Os valores dos parâmetros estimados por Voll et al. (2011) e utilizados neste modelo são apresentados na Tabela 13. Vale ressaltar que os valores das constantes de equilíbrio, exibidos na Tabela 13, não foram alterados em relação à temperatura, pois a variação desta nos experimentos foi pequena (30°C).

Tabela 13 – Parâmetros da literatura para o modelo cinético (equações das taxas de reação) da glicerólise do óleo de oliva catalisada pela Novozym 435 na presença do solvente terc-butanol (VOLL et al., 2011)

<i>i</i>	K_i (g substrato ² /mmol ²)	A_i (g substrato ² /(g enzima min mmol))	Ea_i (K)
1	$2,28 \times 10^{-1}$	5953,91	2201,07
2	$1,94 \times 10^{-3}$	16,42	$6,45 \times 10^{-3}$
3	-	-	-
4	$1,77 \times 10^{-4}$	50,85	$1,32 \times 10^{-2}$
5	$9,93 \times 10^{-4}$	47,46	$1,01 \times 10^{-1}$
6	$1,63 \times 10^{-4}$	2,02	41,97
7	757,72	10615,00	1869,91
8	-	-	-
9	$4,41 \times 10^{-5}$	1796,63	280,37
10	5236,95	-	-
11	$8,90 \times 10^{-3}$	282449000,00	5468,07
12	$2,96 \times 10^{-3}$	117844,00	1897,15

A atividade enzimática é definida como a razão entre a concentração de enzimas ativas e a concentração total de enzimas:

$$a = \frac{[E_{act}]}{[ET]} \quad (96)$$

Para este modelo que representa a glicerólise na presença do solvente terc-butanol, utilizou-se as ferramentas de otimização a fim de buscar maximizar a produção exclusiva de DAG, conforme representado pela Equação 97. Todavia, conforme nos outros problemas de otimização da reação de glicerólise, a função objetivo foi formulada de maneira que o perfil ótimo utilize o mínimo de substrato necessário. Como este modelo considera as etapas de hidrólise e esterificação juntamente com a reação de glicerólise, para este problema, a água foi adicionada juntamente com o glicerol na corrente de entrada. Ou seja, a função objetivo considera a soma de ambos os substratos, glicerol e água. A Figura 17 apresenta o diagrama desse processo.

$$Função\ objetivo = \max \left\{ \frac{[DAG]}{1 + [W] + [G]} \right\} \quad (97)$$

No estudo da otimização do modelo de glicerólise para maximização de DAG, foram consideradas diferentes condições de operação. Os impactos do tempo total de processo, das quantidades iniciais de glicerol e água no meio reacional e das frações dos substratos na corrente de entrada foram avaliados. A configuração do processo, batelada ou batelada

alimentada, também foi estudada. Ou seja, para cada condição específica, simulou-se as respostas do processo batelada equivalente, isto é, daquele que contém a concentração de substratos inicial equivalente à toda a quantidade de substratos (inicial e adicionada) utilizada na operação batelada alimentada. As especificações das condições de cada caso estudado, tanto das simulações das bateladas como das otimizações em batelada alimentada, estão apresentadas na Tabela 14. Para o segundo caso, são também apresentados os limites das variáveis de controle (vazão de alimentação do substrato).

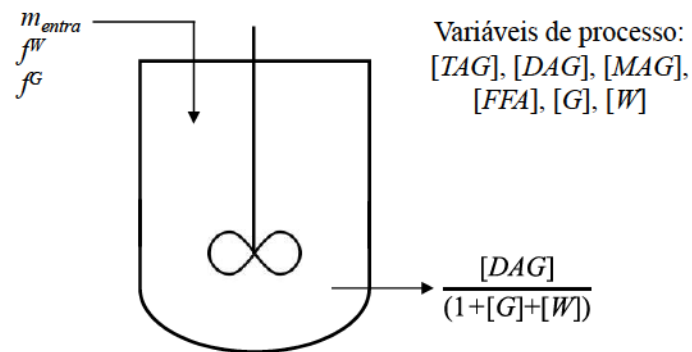


Figura 17 – Diagrama do biorreator utilizado para a reação de glicerólise na presença de solvente terc-butanol DAG

Tabela 14 – Dados das simulações e otimizações dos diferentes casos de estudo da glicerólise na presença de terc-butanol

Estudo de caso*	O1	O2	O3	O4	S2	S3	S4	O5	S5
Concentração enzima (g/g substrato)	0,1041	0,1041	0,1041	0,1041	0,1014	0,1017	0,1022	0,1041	0,1015
Temperatura (°C)	55	55	55	55	55	55	55	55	55
Tempo total de processo (min)	722	722	722	722	722	722	722	180	180
Massa inicial de glicerol (g)	0	0	0	0	2,2535	0,559	0,8481	0	2,368
Massa inicial de água (g)	0	0	0	0	0,2505	1,677	0,8481	0	0,0732
Fração de glicerol na corrente de entrada	0,97	0,9	0,75	0,5	-	-	-	0,97	-
Fração de água na corrente de entrada	0,03	0,1	0,25	0,5	-	-	-	0,03	-
Limite inferior da vazão de alimentação (g/min)	0	0	0	0	-	-	-	0	-
Limite superior da vazão de alimentação (g/min)	1	1	1	1	-	-	-	1	-

*O = Otimização; S = Simulação

4.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção serão apresentados os resultados referentes à otimização dinâmica da produção de acilgliceróis. No subitem 4.2.1 estão apresentados os resultados do controle ótimo para produção de MAG, e para a otimização da soma de ambos acilgliceróis, MAG e DAG, no processo de glicerólise representada por um modelo ajustado aos dados experimentais obtidos da literatura (VALÉRIO et al., 2009a). Os experimentos foram realizados na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT. Os resultados do controle ótimo para maximização da produção de DAG utilizando um modelo empírico disponível na literatura (VOLL et al., 2011) para a glicerólise na presença de solvente terc-butanol são apresentados no subitem 4.2.2.

4.2.1 Glicerólise na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT

Uma comparação entre os resultados obtidos da simulação do modelo ajustado e os dados experimentais da glicerólise na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT (VALÉRIO et al., 2009a) é apresentada na Figura 18. Os desvios quadráticos médios foram $\text{rmsd}_{\text{TAG}}(\times 100) = 3,67$, $\text{rmsd}_{\text{DAG}}(\times 100) = 2,85$ e $\text{rmsd}_{\text{MAG}}(\times 100) = 3,12$. Os resultados demonstram que o modelo ajustado é capaz de reproduzir os dados experimentais para diferentes condições de razão molar de glicerol para óleo (2:1, 6:1 e 10:1) e de concentração enzimática (5% b. s., 7,5% b. s. e 10% b. s.). Estes fatos corroboram a validade do ajuste e sugerem que o modelo pode ser utilizado para o estudo de controle ótimo.

Conforme observado pelas Figura 18 (a), (b) e (c), quanto menor a razão de glicerol para óleo, maior a concentração final de MAG. Sendo assim, o modelo ajustado sugere, em confirmação com os dados experimentais, que a adição excessiva de glicerol pode inibir a reação de glicerólise (Equação 83). Por conseguinte, um primeiro estudo de maximização da produção de MAG com alimentação controlada do substrato glicerol é apresentado. Os perfis de concentração dos componentes da reação (sendo estes apresentados em g/g de substrato e em porcentagem livre de glicerol), de vazões de alimentação do substrato e de atividade enzimática, todos em função do tempo, resultantes da melhor corrida (em relação ao valor da função objetivo) deste estudo são apresentados na Figura 19. De acordo com o perfil ótimo da vazão de alimentação do substrato (Figura 19 (b)), o mesmo não apresenta quase nenhuma entrada nos primeiros minutos de processo. Os valores numéricos das vazões de alimentação referentes à média das 10 corridas são apresentados na Tabela 15.

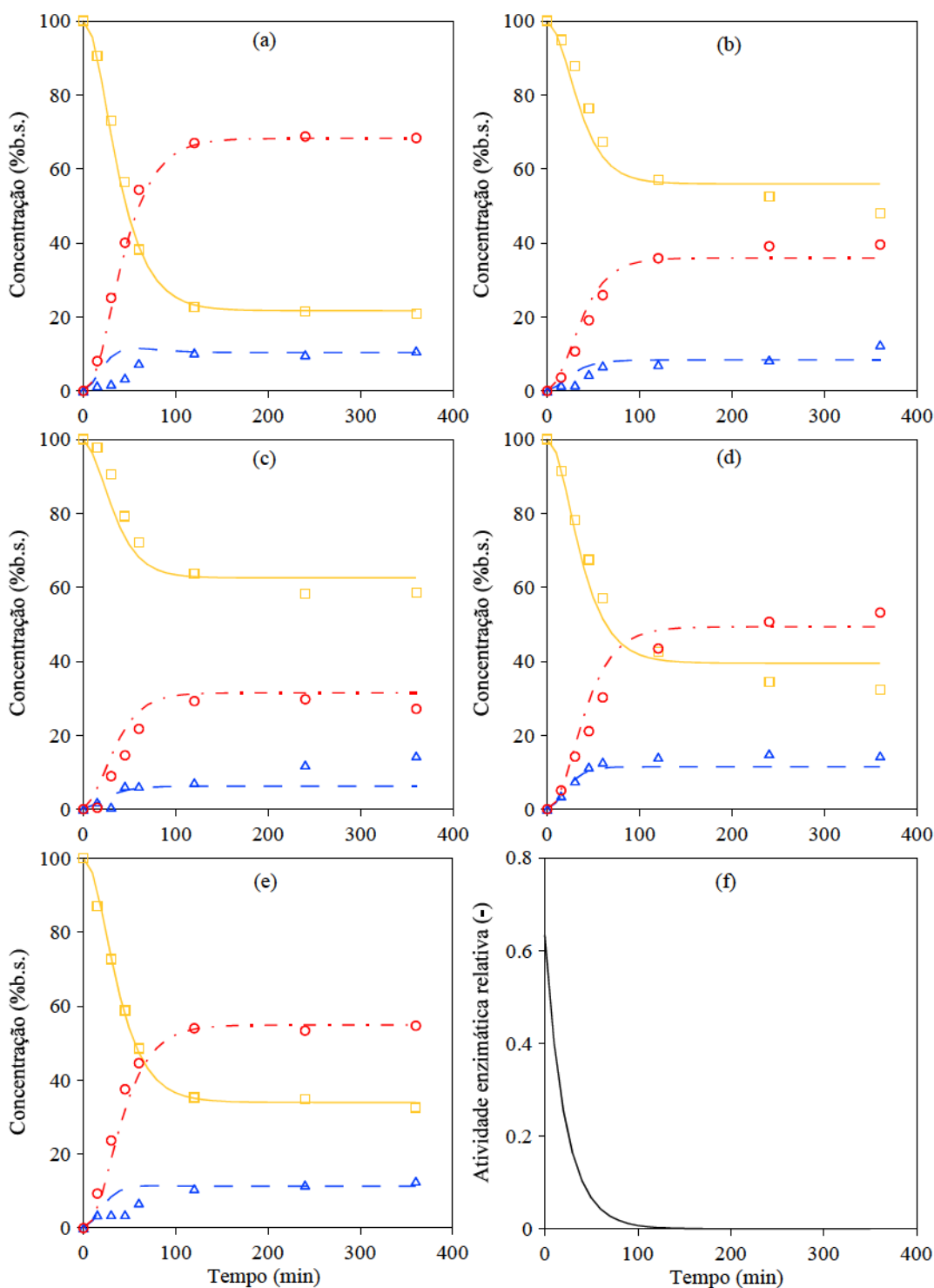


Figura 18 – Comparação dos dados experimentais (símbolos) com os simulados (curvas) para a glicerólise do óleo de oliva em meio n-butano/AOT, sendo: TAG – amarelo e quadrados, DAG – azul e triângulos, e MAG – vermelho e círculos. Razão molar de glicerol para óleo de (a) 2:1, (b) 6:1 e (c) 10:1 em concentração enzimática de 7,5% b. s., teor de enzima de (d) 5% b. s. e (e) 10% b.s. com uma razão molar de glicerol para óleo fixa de 2:1 e (f) a representação da atividade enzimática relativa à razão molar de glicerol para óleo de 2:1 e concentração de enzima de 10% b. s. Condições experimentais fixas: 70°C, 10 bar, razão mássica de n-butano para substrato de 4:1, agitação de 600 rpm e teor de AOT de 7,5% b. s. Resultados dos teores de TAG, DAG e MAG expressos em surfatante e sem glicerol

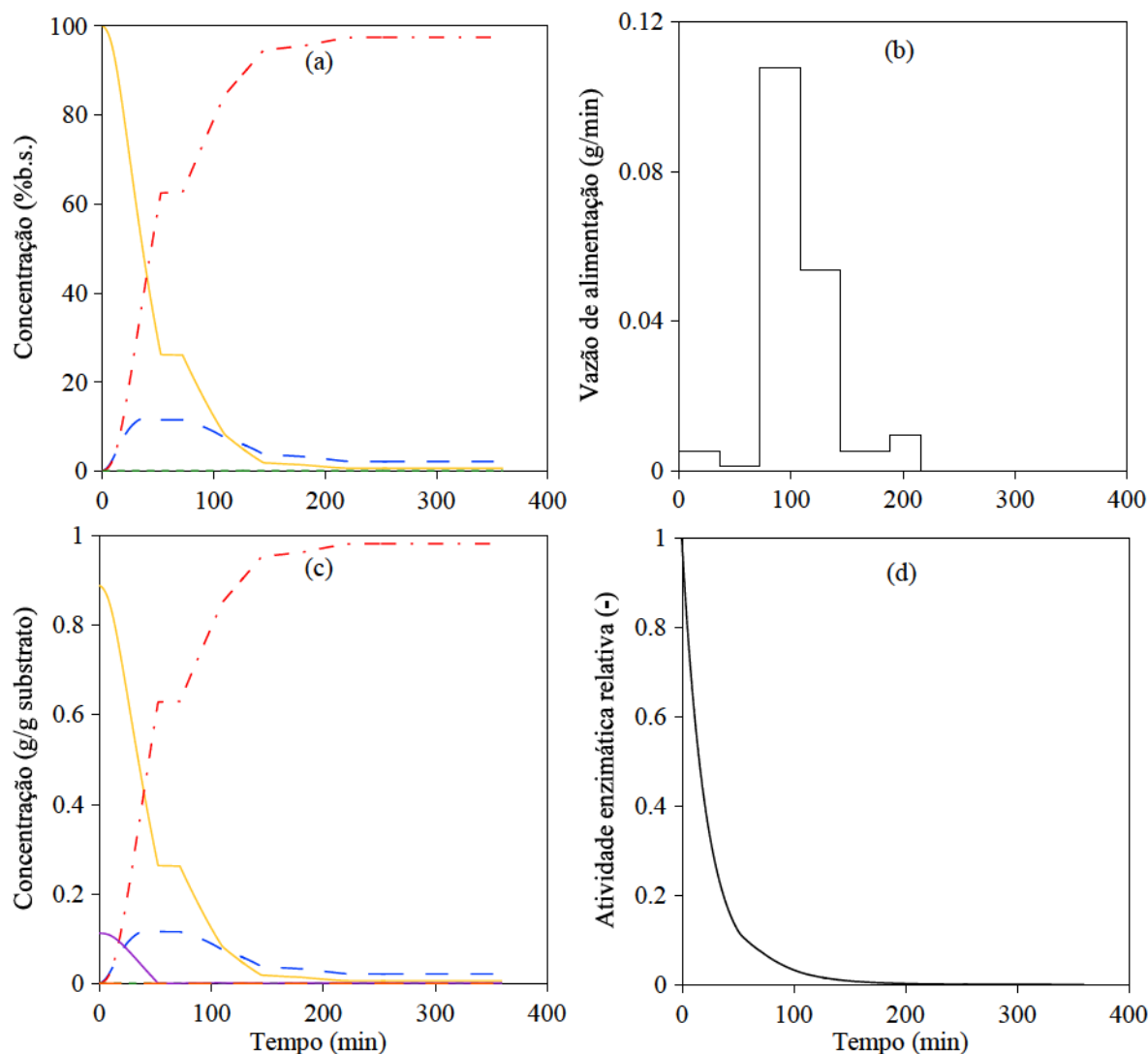


Figura 19 – Resultados da melhor corrida utilizando DE para otimização do processo de produção de MAG, sendo: TAG – amarelo, DAG – azul, MAG – vermelho, FFA – verde, G – roxo e W - alaranjado. Glicerólise na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT. Razão molar inicial de glicerol para óleo de 1,2:1; teor inicial de enzima de 7,5 % em relação a massa total dos substratos iniciais (6,9791 g) e temperatura de 70°C

Tabela 15 – Perfil ótimo da vazão de alimentação do processo de produção de MAG utilizando DE. Glicerólise na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT

Janela de tempo	Vazão de alimentação (g/ min)
1	$0,03 \times 10^{-1} \pm 0,02 \times 10^{-1}$
2	$0,01 \pm 0,01$
3	$0,10 \pm 0,01$
4	$0,04 \pm 0,01$
5	$0,19 \times 10^{-1} \pm 0,06 \times 10^{-1}$
6	$0,04 \times 10^{-1} \pm 0,03 \times 10^{-1}$
7	$0,13 \times 10^{-5} \pm 0,09 \times 10^{-5}$
8	$10,00 \times 10^{-5} \pm 0,00$
9	$10,00 \times 10^{-5} \pm 0,00$
10	$10,00 \times 10^{-5} \pm 0,00$

Essa baixa vazão de alimentação nas duas primeiras janelas de tempo do processo se deve provavelmente ao fato de no início já haver glicerol presente no reator. A medida que este vai sendo consumido, o perfil demonstra a necessidade da adição de mais glicerol para que o componente de interesse MAG continue sendo produzido. Percebe-se, no entanto, que essa vazão mais elevada não é mantida, uma vez que o processo restringe a atividade enzimática pelo excesso de glicerol.

O resultado da otimização (Figura 19 (a)) também demonstra que a utilização da ferramenta de controle ótimo da alimentação de glicerol pode maximizar a produção de MAG. Isso é evidente pela comparação da concentração final de MAG obtida pelo processo em operação batelada alimentada (97,37% b. s., referente à melhor corrida) com a produzida pelo sistema em batelada (70% b. s., Figura 18 (a)) nas mesmas condições de massa de enzima (6,98 g) e temperatura (70 °C).

O valor de concentração final de MAG médio das 10 corridas, assim como de todos os outros componentes da reação, da quantidade de substrato adicionada, da atividade enzimática remanescente, da massa total final no interior do reator e do valor da função objetivo são apresentados na Tabela 16. Vale ressaltar que o valor da função objetivo apresentado na Tabela 16 é negativo porque o algoritmo DE somente trabalha com minimização de valores. Em outras palavras, como se deseja maximizar a produtividade, o problema teve que ser formulado de forma a minimizar o valor negativo da mesma função.

Todavia, considerando o fato de que a otimização dinâmica fez uso de uma quantidade diferente de glicerol que a das simulações que representam os dados experimentais, uma comparação mais justa foi efetuada simulando-se uma operação batelada com quantidades mássicas de enzimas e de substrato idênticas às obtidas pela melhor corrida de controle ótimo. Resultados dessa nova simulação são apresentados na Figura 20.

Tabela 16 – Resultados da otimização do processo de produção de MAG utilizando DE. Glicerólise na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT

Quantidade de glicerol adicionada (g)	$65,55 \times 10^{-1} \pm 0,06 \times 10^{-1}$
Quantidade de água adicionada (g)	$0,00 \pm 0,00$
[TAG] final (g)	$5,56 \times 10^{-3} \pm 0,05 \times 10^{-3}$
[DAG] final (g)	$20,92 \times 10^{-3} \pm 0,06 \times 10^{-3}$
[MAG] final (g)	$981,24 \times 10^{-3} \pm 0,08 \times 10^{-3}$
[FFA] final (g)	$0,00 \pm 0,00$
[G] final (g)	$40,00 \times 10^{-5} \pm 0,00 \times 10^{-5}$
[W] final (g)	$0,00 \pm 0,00$
a remanescente	$0,00 \pm 0,00$
m_T final (g)	$996,11 \times 10^{-1} \pm 0,01 \times 10^{-1}$
Valor da função objetivo	$- 9618,11 \times 10^{-2} \pm 0,02 \times 10^{-2}$

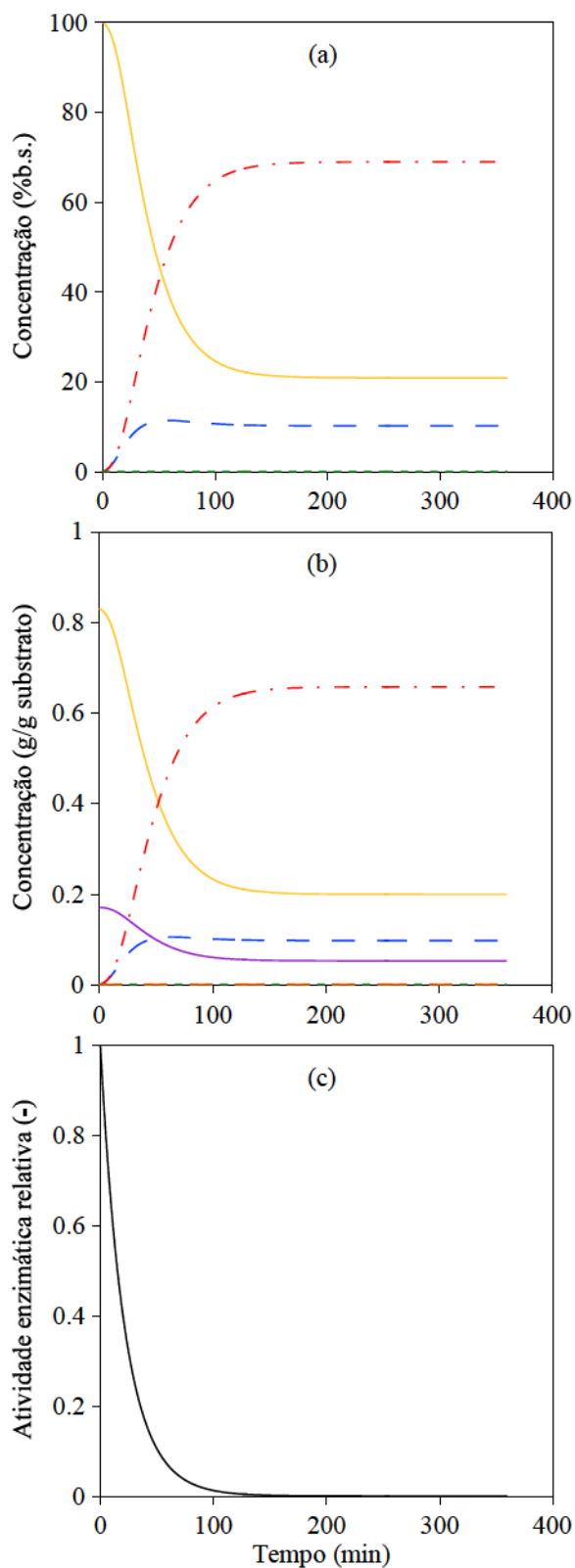


Figura 20 – Resultados da simulação do processo batelada da glicerólise na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT, sendo: TAG – amarelo, DAG – azul, MAG – vermelho, FFA – verde, G – roxo e W - alaranjado. Massas iniciais de óleo e glicerol de 82,64 g e 16,97 g, respectivamente; teor inicial de enzima de 6,98 g e temperatura de 70°C

Novamente, conforme esperado, a produção de acilgliceróis é maior quando o glicerol é adicionado continuamente do que quando o mesmo é inserido em sua totalidade no início da reação. Em comparação com a concentração final de MAG obtida da corrida ótima, a batelada equivalente produziu apenas 68,92% b. s. de MAG. Na média das 10 corridas, o processo batelada alimentada foi capaz de aumentar em $49,29 \pm 0.07$ % o rendimento do produto desejado.

Pela comparação do perfil da atividade enzimática resultante do controle ótimo (Figura 19 (b)) com o obtido pelo processo batelada (Figura 20 (c)), é possível perceber como o substrato adicionado em sua totalidade no início do processo pode causar inibição enzimática. Isso acaba interferindo diretamente no rendimento da produção de MAG. A Figura 21 mostra uma comparação dos perfis enzimáticos otimizado com a respectiva simulação batelada num corte de tempo entre 100 e 350 minutos para facilitar a visualização.

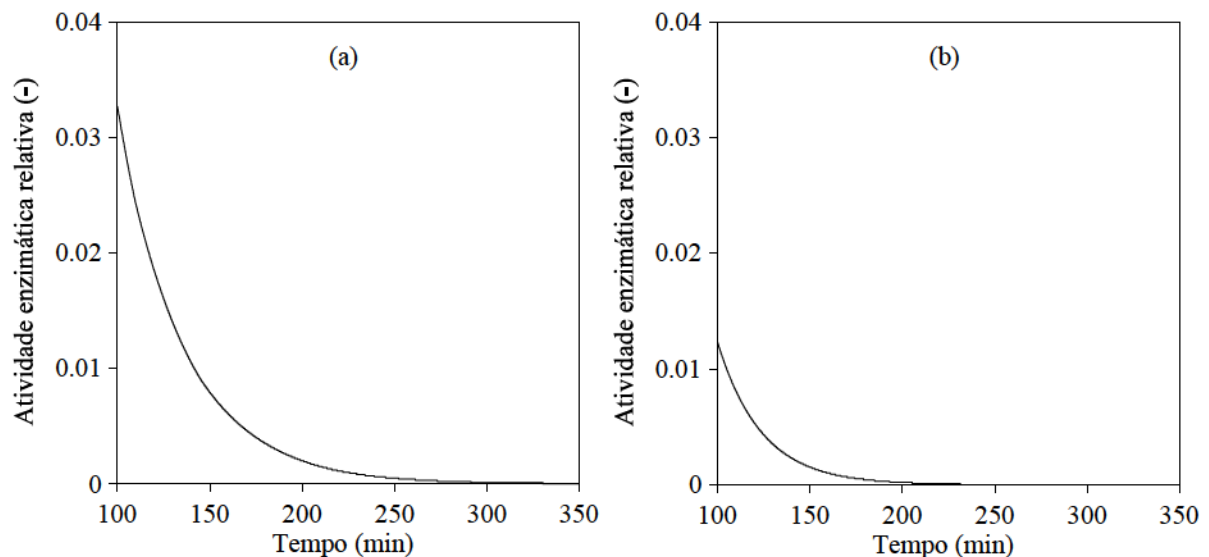


Figura 21 – Comparação do perfil de atividade enzimática de processo de glicerólise na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT obtidos pelo (a) controle ótimo para maximizar a produção de MAG e pela (b) simulação do processo batelada com a mesma quantidade de massa de glicerol e enzima utilizados na batelada alimentada otimizada

Um novo teste foi então realizado, em que a função objetivo foi formulada de forma a maximizar a soma dos acilgliceróis DAG e MAG com o mínimo de consumo de glicerol possível (Equação 85). Os resultados referentes a média das 10 corridas realizadas estão apresentados na Tabela 17. Observa-se que soma dos valores das concentrações finais de MAG e DAG da Tabela 17 ($\sim 1,00$ g) é quase igual para o processo de otimização exclusiva de MAG da Tabela 16 ($\sim 1,00$ g). Além disso, a melhor corrida do problema de maximização

de MAG produziu 98,12 g de MAG/g substrato que é quase a mesma quantidade de 96,97 g de MAG/g substrato produzida pela melhor corrida de otimização da soma dos acilgliceróis.

Para este último caso ainda, observa-se que MAG representam aproximadamente 97,19% da quantidade total de acilgliceróis (MAG e DAG). Isso indica que o monoacilglicerol é o produto favorecido pela reação de glicerólise na presença do solvente n-butano e do surfatante AOT. Desta forma, para o estudo da maximização exclusiva de DAG um novo modelo foi utilizado e os resultados são apresentados no tópico seguinte.

As médias dos valores das vazões de alimentação das 10 corridas do estudo para otimizar a soma de MAG e DAG são apresentadas na Tabela 18. O perfil de variação das vazões de alimentação do substrato mantém a tendência observada no caso da maximização exclusiva de MAG, na qual a alimentação de substrato é mínima nos primeiros minutos de processo, porém apresenta picos subsequentes para manter a ocorrência da reação e por fim, as vazões são mínimas para não haver inibição enzimática.

Tabela 17 – Resultados da otimização do processo de produção da soma de DAG e MAG utilizando DE. Glicerólise na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT

Quantidade de glicerol adicionada (g)	$63,58 \times 10^{-1} \pm 0,02 \times 10^{-1}$
Quantidade de água adicionada (g)	$0,00 \pm 0,00$
[TAG] final (g)	$10,05 \times 10^{-3} \pm 0,05 \times 10^{-3}$
[DAG] final (g)	$28,01 \times 10^{-3} \pm 0,03 \times 10^{-3}$
[MAG] final (g)	$969,68 \times 10^{-3} \pm 0,08 \times 10^{-3}$
[FFA] final (g)	$0,00 \pm 0,00$
[G] final (g)	$30,00 \times 10^{-5} \pm 0,00 \times 10^{-5}$
[W] final (g)	$0,00 \pm 0,00$
a remanescente	$0,00 \pm 0,00$
m_T final (g)	$994,03 \times 10^{-1} \pm 0,01 \times 10^{-1}$
Valor da função objetivo	$-96403,43 \times 10^{-3} \pm 0,08 \times 10^{-3}$

Tabela 18 – Perfil ótimo da vazão de alimentação do processo de produção da soma de DAG e MAG utilizando DE. Glicerólise na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT

Janela de tempo	Vazão de alimentação (g/ min)
1	$0,05 \times 10^{-3} \pm 0,04 \times 10^{-3}$
2	$0,32 \times 10^{-1} \pm 0,02 \times 10^{-1}$
3	$0,92 \times 10^{-1} \pm 0,02 \times 10^{-1}$
4	$0,36 \times 10^{-1} \pm 0,04 \times 10^{-1}$
5	$0,14 \times 10^{-1} \pm 0,01 \times 10^{-1}$
6	$0,15 \times 10^{-2} \pm 0,07 \times 10^{-2}$
7	$0,11 \times 10^{-4} \pm 0,01 \times 10^{-4}$
8	$10,00 \times 10^{-6} \pm 0,01 \times 10^{-6}$
9	$10,00 \times 10^{-5} \pm 0,00$
10	$10,00 \times 10^{-10} \pm 0,00$

Para este novo estudo de otimização, os perfis de concentração de componentes (em g/ g substrato) e de atividade enzimática resultantes da melhor corrida são demonstrados na Figura 22. A mesma figura apresenta também os perfis resultantes da simulação batelada com as condições iniciais de massas de substrato e de enzimas equivalentes às quantidades mássicas totais utilizadas na otimização batelada alimentada para produção dos acilgliceróis MAG e DAG.

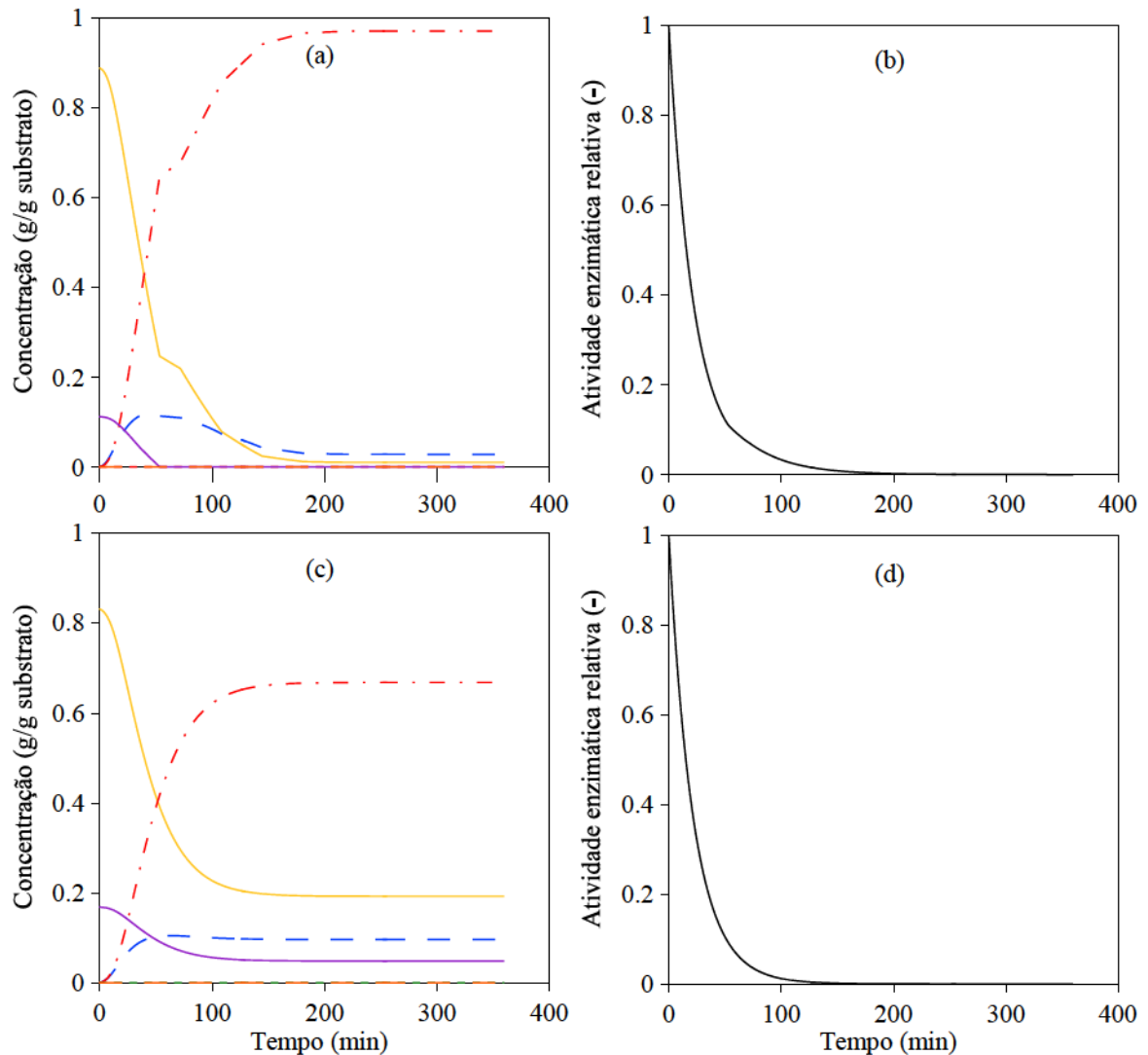


Figura 22 – Comparação do perfil de atividade enzimática de processo de glicerólise na presença de solvente n-butano comprimido e surfatante AOT obtidos pelo (a, b) controle ótimo para maximizar a soma da produção de MAG e DAG e pela (c, d) simulação do processo batelada com a mesma quantidade de massa de óleo (82,64 g), glicerol (16,7714 g) e enzima (6,9791) utilizados na batelada alimentada otimizada. Sendo: TAG – amarelo, DAG – azul, MAG – vermelho, FFA – verde, G – roxo e W - alaranjado

Mais uma vez, conforme observado no estudo da maximização exclusiva de MAG, através da comparação da Figura 22 (b) e (d), é possível notar que a atividade relativa das

enzimas no processo batelada é completamente perdida antes que no processo batelada alimentada. Como a atividade enzimática neste processo de glicerólise tem grande influência na produção da soma de acilgliceróis, e a atividade é afetada pela adição de substrato no meio reacional, o controle ótimo da alimentação de glicerol favorece a formação do produto desejado. Neste exemplo específico apresentado pela Figura 22, a batelada produziu 0,76 g de acilgliceróis, o que corresponde à 23,0 % a menos que o produzido pela batelada alimentada.

4.2.2 Glicerólise na presença de solvente terc-butanol

A Figura 23 apresenta a validação da rotina computacional gerada para solução do sistema de equações diferenciais do modelo de glicerólise em sistema batelada na presença de terc-butanol sugerido por Voll et al. (2011). Os dados experimentais de Voll et al. (2011) foram obtidos utilizando-se 15 mL de substratos (óleo de oliva e glicerol), 15 mL de terc-butanol, 10% de enzima em relação a massa total inicial de substratos, agitação constante de 600 rpm e temperatura de 55°C. A razão molar de glicerol para óleo foi de 6:1 (Figura 23a), 0,8:1 (Figura 23b) e 0,5:1,5 (Figura 23c).

A partir da Figura 23 é possível observar que, quanto menor a razão molar inicial de glicerol para óleo, menor a quantidade de MAG no final do processo. Isso pode ser vantajoso quando se tem interesse na produção de DAG com o mínimo possível de MAG residual. Para fins de comparação posterior, o perfil de concentração em g/g de substrato para todos os componentes da reação obtidos da simulação do processo batelada de menor concentração final de MAG residual (~5,3% b. s., razão de glicerol para óleo de 0,5:1,5) é apresentado na Figura 24. A concentração final de DAG para este perfil é de 0,85 g/g de substrato.

Sendo assim, buscou-se como objetivo desse estudo, a maximização da produção exclusiva de DAG. Todavia, como este modelo de glicerólise considera também etapas de hidrólise e esterificação, o problema foi formulado de forma que na corrente de entrada houvesse não somente glicerol como também uma pequena fração de água. Vale ressaltar, portanto, que, conforme já mencionado na Metodologia, neste caso também se buscou a maximização de DAG com o mínimo consumo de substratos (glicerol e água) possível (Equação 97).

Para o primeiro estudo de otimização realizado (Estudo de caso O1), foram consideradas as mesmas condições de processo (concentração enzimática, temperatura e tempo de reação) que aquelas utilizadas na batelada que forneceu a menor concentração residual de MAG (Figura 23 (c) e Figura 24).

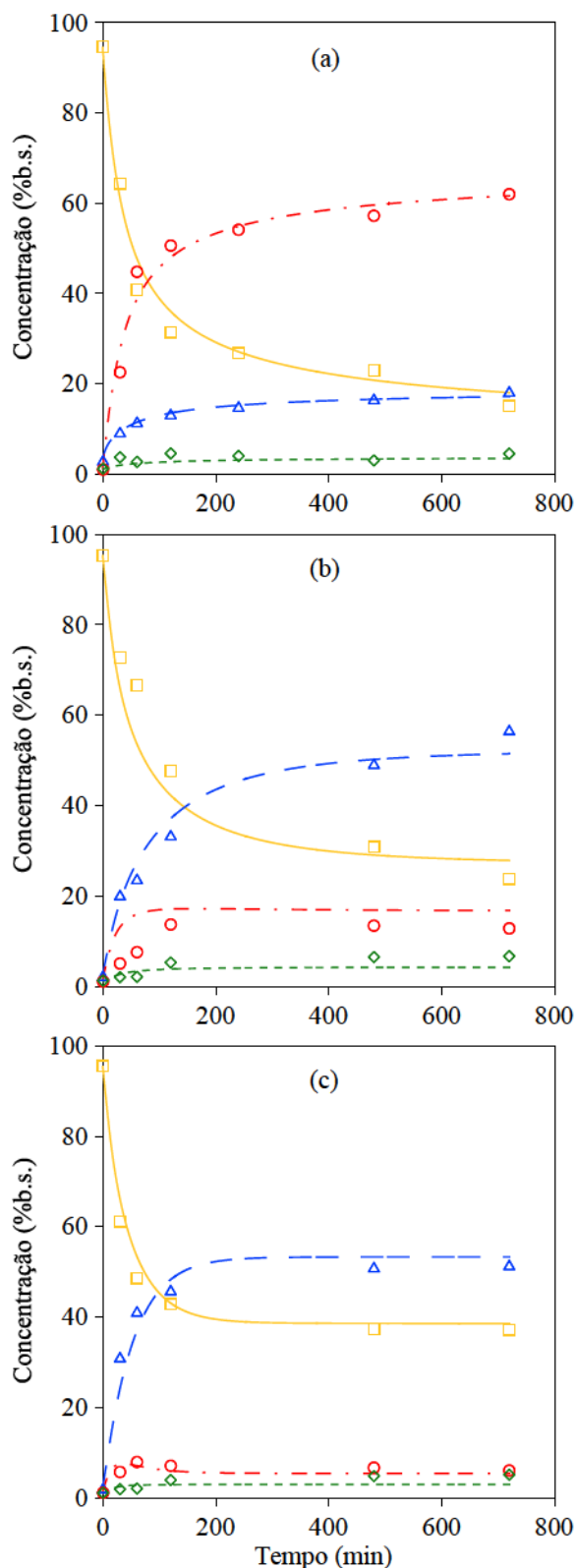


Figura 23 – Comparação dos dados experimentais (símbolos) com os simulados (curvas), sendo: TAG – amarelo e quadrados, DAG – azul e triângulos, MAG – vermelho e círculos, FFA – verde e losangos; para as razões molares de glicerol para óleo de (a) 6:1, (b) 0,8:1 e (c) 0,5:1,5 na cinética da glicerólise do óleo de oliva em meio terc-butanol. Condições experimentais fixas: 55°C, concentração enzimática de 10% b. s., agitação de 600 rpm e razão mássica de terc-butanol para substrato (óleo e glicerol) de 1:1

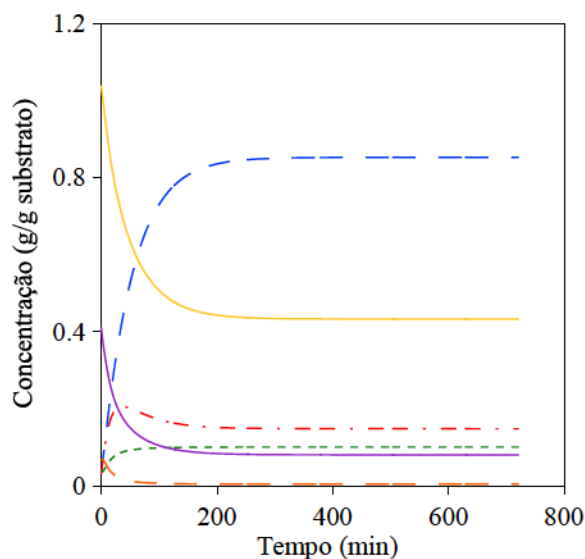


Figura 24 – Simulação da concentração dos componentes na glicerólise em terc-butanol para as condições de razão molar de glicerol para óleo de 0,5:1,5; 55°C; concentração enzimática de 10% b. s.; agitação de 600 rpm e razão mássica de terc-butanol para substrato (óleo e glicerol) de 1:1. Sendo: TAG – amarelo, DAG – azul, MAG – vermelho, FFA – verde, G – roxo e W – alaranjado

Para este estudo de otimização (O1) não foi adicionada nenhuma massa de substratos (água e glicerol) com o óleo no início do processo e a corrente de entrada foi composta pelas porcentagens mássicas de 97% de glicerol em água. Os perfis de concentrações mássicas e porcentuais dos componentes da reação, de vazão de alimentação e de atividade enzimática relativos à corrida de melhor função objetiva resultante do caso O1 são apresentados na Figura 25. Os resultados ótimos referentes às médias das 10 corridas são apresentados nas Tabela 19 e Tabela 20. Da mesma forma, os resultados de todos os outros testes de otimização para o tempo total de processo de 722 min. (O2, O3 e O4) são apresentados nas mesmas tabelas.

Este primeiro resultado de otimização para o processo de glicerólise em terc-butanol demonstra que, apesar de o processo batelada alimentada produzir apenas 0,73 g de DAG/g de substrato (Tabela 19 e Figura 25 (c)), ou seja, um pouco a menos em relação ao obtido pelo processo batelada (0,85 g/g de substrato, conforme Figura 23 (c)), a quantidade de MAG e FFA remanescentes no final do processo otimizado foram muito inferiores. As concentrações finais de MAG e FFA no processo em operação batelada foram de 0,15 e 0,10 g/g de substrato, respectivamente, sendo que as mesmas foram de 0,05 g de MAG/g de substrato e 0,08 g de FFA/g de substrato para o processo ótimo (Tabela 19). Esse fator se torna atrativo uma vez que o custo para remoção de produtos indesejáveis pode ser reduzido nos casos em que se deseja a obtenção pura de DAG.

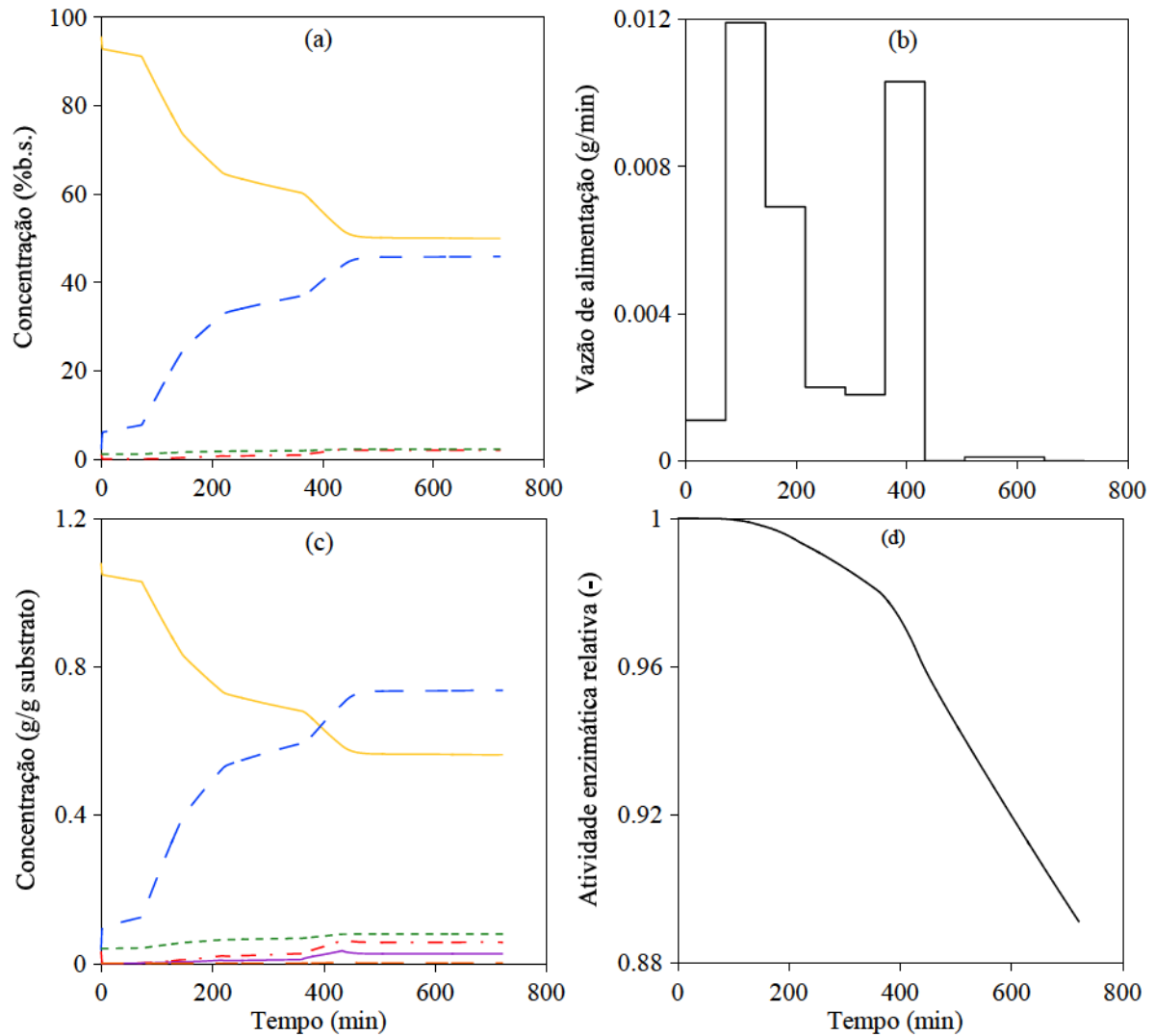


Figura 25 – Controle ótimo da glicerólise em terc-butanol para as condições do Caso O1 (corrente de entrada com 97% de G em W). Sendo: TAG – amarelo, DAG – azul, MAG – vermelho, FFA – verde, G – roxo e W – alaranjado

Outra observação do perfil otimizado é de que o modelo restringe a vazão de alimentação do substrato. Mesmo que o limite superior da vazão da corrente de alimentação composta majoritariamente por glicerol (97%) ser de 1,0000 g/min, as janelas de alimentação de substrato não excederam a vazão de 0,011898 g/min (Figura 25 (b)). Na média das 10 corridas, a maior vazão de alimentação de substrato, foi de $7,26 \times 10^{-3} \pm 4,59 \times 10^{-3}$ g/min (observar janela 6 na Tabela 20). Isso se deve, muito provavelmente, porque a função objetivo restringe a alimentação de substrato. Além disso, conforme o esperado, observou-se uma queda mais acentuada na curva de atividade enzimática relativa (Figura 25 (d)) após a diminuição da adição de glicerol (em torno dos 500 min, após a sétima janela de tempo) no meio reacional. Conforme discutido anteriormente, a alta razão de glicerol para óleo pode

gerar aderência do substrato ao suporte enzimático e causar limitações na transferência de massa, restringindo a atividade das enzimas (VALÉRIO et al., 2009a).

Como no caso de estudo envolvendo o solvente terc-butanol, a corrente de entrada é composta por dois substratos, a comparação dos resultados do controle ótimo aplicado para as diferentes composições de corrente de entrada é apresentada a seguir. A Figura 26 (a) apresenta o perfil das concentrações dos componentes do óleo no decorrer do processo da melhor das 10 corridas resultante do perfil de vazão de alimentação do substrato apresentada na Figura 26 (b) para uma corrente contendo 90% de glicerol em água (Experimento de otimização O2).

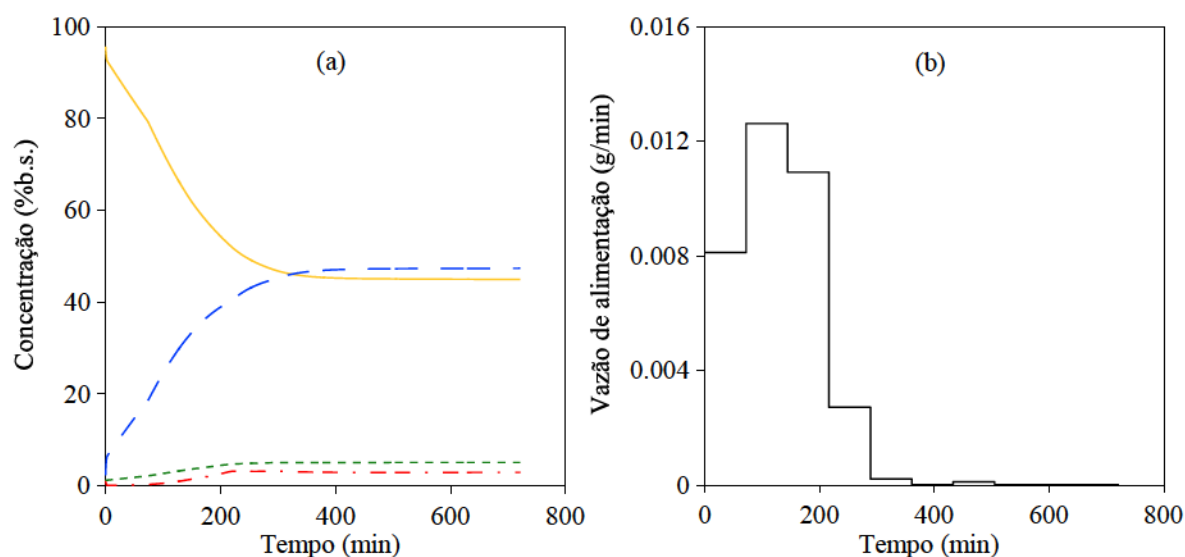


Figura 26 – Controle ótimo de glicerólise em tert-butanol para as condições do Caso O2 (corrente de entrada com 90% de G em W). Sendo: TAG – amarelo, DAG – azul, MAG – vermelho e FFA – verde

No caso de estudo O2 (Figura 26), no qual a corrente de entrada possui 90% de glicerol e 10% de água, observa-se que, pelo fato de quase toda a alimentação de substrato se dar nas primeiras janelas de tempo, a reação se estabilizou mais rapidamente que no Estudo de caso O1 (Figura 25), com 97% de glicerol em água.

Outra observação é que a vazão de alimentação de substratos no caso O2 foi maior nos primeiros minutos de processo que no caso O1 (Observar janelas 1, 2 e 3 na Tabela 20). Aparentemente, isso ocorre porque a fração de glicerol na corrente de entrada é menor, fazendo com que maiores vazões não causem um impacto negativo na atividade enzimática da mesma forma que no Estudo de caso O1. A maior quantidade de água alimentada também favoreceu a produção de FFA através da reação de hidrólise.

Tabela 19 – Resultados da otimização do processo de produção de DAG utilizando DE, Glicerólise na presença de solvente terc-butanol

Caso*	O1	O2	O3	O4
G_{ad} (g)**	$23,75 \times 10^{-1} \pm 0,08 \times 10^{-1}$	$22,53 \times 10^{-1} \pm 0,04 \times 10^{-1}$	$167,70 \times 10^{-2} \pm 0,06 \times 10^{-2}$	$84,81 \times 10^{-2} \pm 0,03 \times 10^{-2}$
W_{ad} (g)***	$7,34 \times 10^{-2} \pm 0,02 \times 10^{-2}$	$25,04 \times 10^{-2} \pm 0,05 \times 10^{-2}$	$55,90 \times 10^{-2} \pm 0,02 \times 10^{-2}$	$84,81 \times 10^{-2} \pm 0,03 \times 10^{-2}$
[TAG] final (g)	$5,64 \times 10^{-1} \pm 0,01 \times 10^{-1}$	$50,45 \times 10^{-2} \pm 0,06 \times 10^{-2}$	45,85 $\times 10^{-2} \pm 0,01 \times 10^{-2}$	45,40 $\times 10^{-2} \pm 0,01 \times 10^{-2}$
[DAG] final (g)	7,34 $\times 10^{-1} \pm 0,01 \times 10^{-1}$	76,08 $\times 10^{-2} \pm 0,05 \times 10^{-2}$	740,81 $\times 10^{-3} \pm 0,09 \times 10^{-3}$	680,53 $\times 10^{-3} \pm 0,05 \times 10^{-3}$
[MAG] final (g)	5,59 $\times 10^{-2} \pm 0,04 \times 10^{-2}$	$8,01 \times 10^{-2} \pm 0,03 \times 10^{-2}$	$93,87 \times 10^{-3} \pm 0,09 \times 10^{-3}$	$7,95 \times 10^{-2} \pm 0,01 \times 10^{-2}$
[FFA] final (g)	7,89 $\times 10^{-2} \pm 0,01 \times 10^{-2}$	17,77 $\times 10^{-2} \pm 0,02 \times 10^{-2}$	351,87 $\times 10^{-3} \pm 0,09 \times 10^{-3}$	$51,84 \times 10^{-2} \pm 0,02 \times 10^{-2}$
[G] final (g)	$2,53 \times 10^{-2} \pm 0,02 \times 10^{-2}$	$1,95 \times 10^{-2} \pm 0,01 \times 10^{-2}$	$12,17 \times 10^{-3} \pm 0,05 \times 10^{-3}$	$6,38 \times 10^{-3} \pm 0,04 \times 10^{-3}$
[W] final (g)	$1,25 \times 10^{-3} \pm 0,05 \times 10^{-3}$	$21,00 \times 10^{-4} \pm 0,00 \times 10^{-4}$	$27,00 \times 10^{-4} \pm 0,00 \times 10^{-4}$	$22,00 \times 10^{-4} \pm 0,00 \times 10^{-4}$
a remanescente	$0,90 \pm 0,01$	8,76 $\times 10^{-1} \pm 0,08 \times 10^{-1}$	88,64 $\times 10^{-2} \pm 0,06 \times 10^{-2}$	92,80 $\times 10^{-2} \pm 0,03 \times 10^{-2}$
m_T final (g)	$985,18 \times 10^{-1} \pm 0,08 \times 10^{-1}$	$985,73 \times 10^{-1} \pm 0,04 \times 10^{-1}$	$9830,60 \times 10^{-2} \pm 0,07 \times 10^{-2}$	$9776,61 \times 10^{-2} \pm 0,06 \times 10^{-2}$
Função objetivo	$-364,26 \times 10^{-1} \pm 0,05 \times 10^{-1}$	$-394,52 \times 10^{-1} \pm 0,03 \times 10^{-1}$	$-40568,63 \times 10^{-3} \pm 0,08 \times 10^{-3}$	$-38936,35 \times 10^{-3} \pm 0,05 \times 10^{-3}$

*Frações mássicas de G e W na corrente de entrada de (O1) 97 % e 3%, (O2) 90% e 10 %, (O3) 75% e 25%, (O4) 50% e 50%, respectivamente;

** G_{ad} = Quantidade de G adicionado pela corrente de entrada (g);*** W_{ad} (g) = Quantidade de W adicionado pela corrente de entrada (g).

Tabela 20 – Perfil ótimo da vazão de alimentação do processo de produção de DAG utilizando DE. Glicerólise na presença de solvente terciário butanol

Caso* Janela**	O1	O2	O3	O4
1	$5,01 \times 10^{-3} \pm 4,72 \times 10^{-3}$	$12,53 \times 10^{-3} \pm 6,99 \times 10^{-3}$	$210,47 \times 10^{-4} \pm 2,65 \times 10^{-4}$	$146,13 \times 10^{-4} \pm 1,09 \times 10^{-4}$
2	$5,18 \times 10^{-3} \pm 3,55 \times 10^{-3}$	$11,28 \times 10^{-3} \pm 7,98 \times 10^{-3}$	$61,91 \times 10^{-4} \pm 3,62 \times 10^{-4}$	$26,40 \times 10^{-4} \pm 1,86 \times 10^{-4}$
3	$2,78 \times 10^{-3} \pm 2,35 \times 10^{-3}$	$7,30 \times 10^{-3} \pm 3,97 \times 10^{-3}$	$37,23 \times 10^{-4} \pm 2,74 \times 10^{-4}$	$62,12 \times 10^{-4} \pm 1,32 \times 10^{-4}$
4	$3,55 \times 10^{-3} \pm 2,63 \times 10^{-3}$	$2,78 \times 10^{-3} \pm 2,22 \times 10^{-3}$	$4,29 \times 10^{-6} \pm 6,71 \times 10^{-6}$	$2,17 \times 10^{-5} \pm 1,95 \times 10^{-5}$
5	$4,47 \times 10^{-3} \pm 3,65 \times 10^{-3}$	$6,93 \times 10^{-4} \pm 8,83 \times 10^{-4}$	$1,21 \times 10^{-6} \pm 2,46 \times 10^{-6}$	$8,75 \times 10^{-7} \pm 18,36 \times 10^{-7}$
6	$7,26 \times 10^{-3} \pm 4,59 \times 10^{-3}$	$4,78 \times 10^{-5} \pm 6,99 \times 10^{-5}$	$21,46 \times 10^{-7} \pm 8,48 \times 10^{-7}$	$2,57 \times 10^{-6} \pm 1,83 \times 10^{-6}$
7	$5,49 \times 10^{-3} \pm 4,87 \times 10^{-3}$	$1,25 \times 10^{-5} \pm 2,01 \times 10^{-5}$	$2,53 \times 10^{-8} \pm 4,90 \times 10^{-8}$	$9,45 \times 10^{-7} \pm 2,72 \times 10^{-7}$
8	$1,05 \times 10^{-4} \pm 1,16 \times 10^{-4}$	$2,62 \times 10^{-5} \pm 2,64 \times 10^{-5}$	$12,17 \times 10^{-7} \pm 5,62 \times 10^{-7}$	$6,33 \times 10^{-7} \pm 1,41 \times 10^{-7}$
9	$7,21 \times 10^{-5} \pm 1,07 \times 10^{-5}$	$1,44 \times 10^{-5} \pm 1,09 \times 10^{-5}$	$2,29 \times 10^{-8} \pm 2,61 \times 10^{-8}$	$1,05 \times 10^{-8} \pm 1,94 \times 10^{-8}$
10	$1,00 \times 10^{-10} \pm 0,00 \times 10^{-10}$	$3,04 \times 10^{-8} \pm 4,99 \times 10^{-8}$	$3,90 \times 10^{-9} \pm 5,60 \times 10^{-9}$	$8,08 \times 10^{-9} \pm 13,49 \times 10^{-9}$

*Frações mássicas de G em W na corrente de entrada de (O1) 97 %, (O2) 90%, (O3) 75% e (O4) 50%, respectivamente;

** Janelas de tempo de 72,2 min. cada.

Outros testes foram ainda realizados diminuindo-se a fração de glicerol em água na corrente de entrada. No teste O3 considerou-se 75% de glicerol em água e, no teste O4, 50%. A Figura 27 apresenta os resultados das corridas ótimas de cada um dos testes O2, O3 e O4.

No caso de estudo O3, no qual a corrente de entrada possui 75% de glicerol e 25% de água, obteve-se uma concentração final de DAG semelhante à da otimização nas condições do estudo O2. No entanto, a maior adição de água favoreceu ainda mais a formação de FFA. Além disso, conforme esperado, pelo fato de a concentração de glicerol na corrente de entrada ser menor e resultar numa menor adição do mesmo, a atividade enzimática no final do processo O3 foi um pouco mais elevada que no final da reação do caso O2. Isso é observado não apenas pelas figuras ótimas, mas também pelos resultados apresentados na Tabela 19.

Como em todos os três últimos casos de otimização (O2, O3 e O4) a alimentação de substrato se deu em sua maior parte nos três primeiros intervalos de tempo de reação (Tabela 20), há um indício de que, para este modelo de glicerólise acompanhado por etapas de hidrólise e esterificação para produção de DAG em meio ter-butanol, os processos em operação batelada possam resultar em concentrações finais de acilgliceróis semelhantes. Sendo assim, simulações das bateladas com as quantidades iniciais de glicerol e água equivalentes as inseridas nas melhores otimizações foram realizadas. Os resultados das bateladas S1 e S2 respectivas aos testes de otimização O1 e O2 são apresentados na Figura 28 e das bateladas S3 e S4 respectivas aos testes de otimização O3 e O4 são apresentadas na Figura 29. As concentrações finais dos componentes das reações de todos os casos de glicerólise na presença de terc-butanol em sistema batelada simulados são apresentadas na Tabela 21.

Primeiramente, é possível observar que as concentrações finais de TAG, DAG, MAG e FFA do processo batelada alimentada O2 (Tabela 19), com as do respectivo processo batelada S2 (Tabela 21), são semelhantes. Por outro lado, conforme o esperado, a atividade enzimática relativa no tempo final do processo batelada é menor do que no caso em que o glicerol é adicionado aos poucos durante os primeiros minutos de processo. Os mesmos efeitos são observados comparando-se os resultados obtidos nos processos batelada alimentada O3 e O4 (Tabela 19), com os respectivos resultados das simulações bateladas S3 e S4 (Tabela 21). Ou seja, ambas as configurações de processo (batelada ou batelada alimentada) resultam em concentrações finais de acilgliceróis semelhantes, porém os sistemas batelada têm efeito negativo sobre a atividade enzimática relativa remanescente no final do processo.

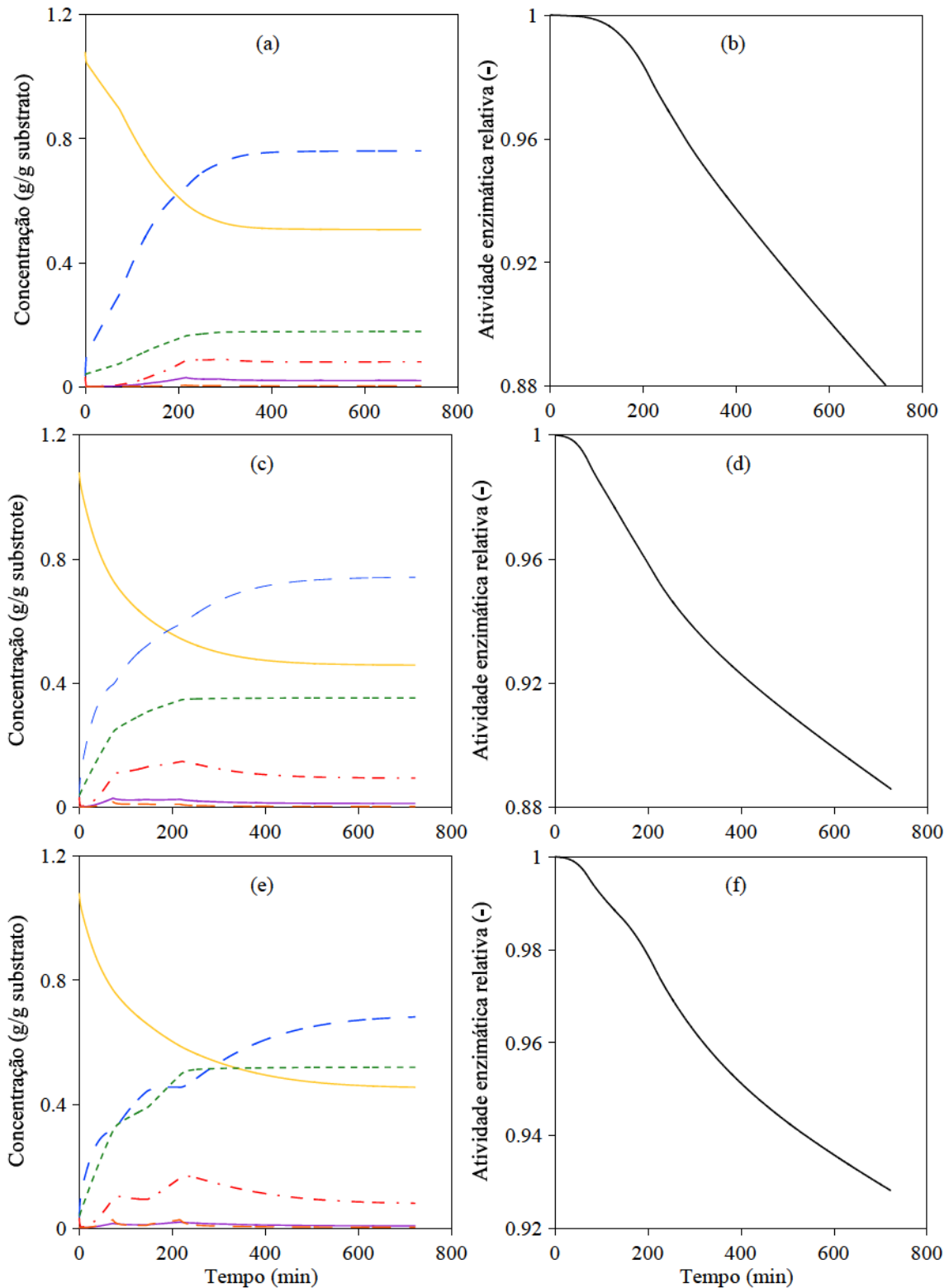


Figura 27 – Comparação de corridas de controle ótimo de glicerólise em tert-butanol para as condições de teste (a, b) O2 (corrente de entrada com 90% de G em W), (c, d) O3 (corrente de entrada com 75% de G em W) e (e, f) O4 (corrente de entrada com 50% de G em W). (a, c, e) TAG – amarelo, DAG – azul, MAG – vermelho, FFA – verde, G – roxo e W – alaranjado

O que se observa através dos estudos de caso referentes ao processo de glicerólise na presença de terc-butanol é que a reação acaba quando o sistema entra em equilíbrio e não

quando há perda total da atividade enzimática. Apesar de os sistemas em operação batelada (S1, S2, S3 e S4) resultarem em uma atividade enzimática relativa menor que nos respectivos processos em batelada alimentada (O1, O2, O3 e O4), em todos os processos por outro lado, não há perda total de atividade. A simulação batelada S2 mostra nitidamente como a reação acaba por volta dos 300 minutos de reação (Figura 28 (c)), quando a atividade enzimática relativa ainda permanece elevada ($\sim 0,85$) (Figura 28 (d)). Esta é a razão pela qual o controle ótimo da alimentação do substrato não apresenta vantagens na produção de DAG para a reação de glicerólise na presença de terc-butanol, porque esta reação entra em equilíbrio ainda com elevada atividade enzimática.

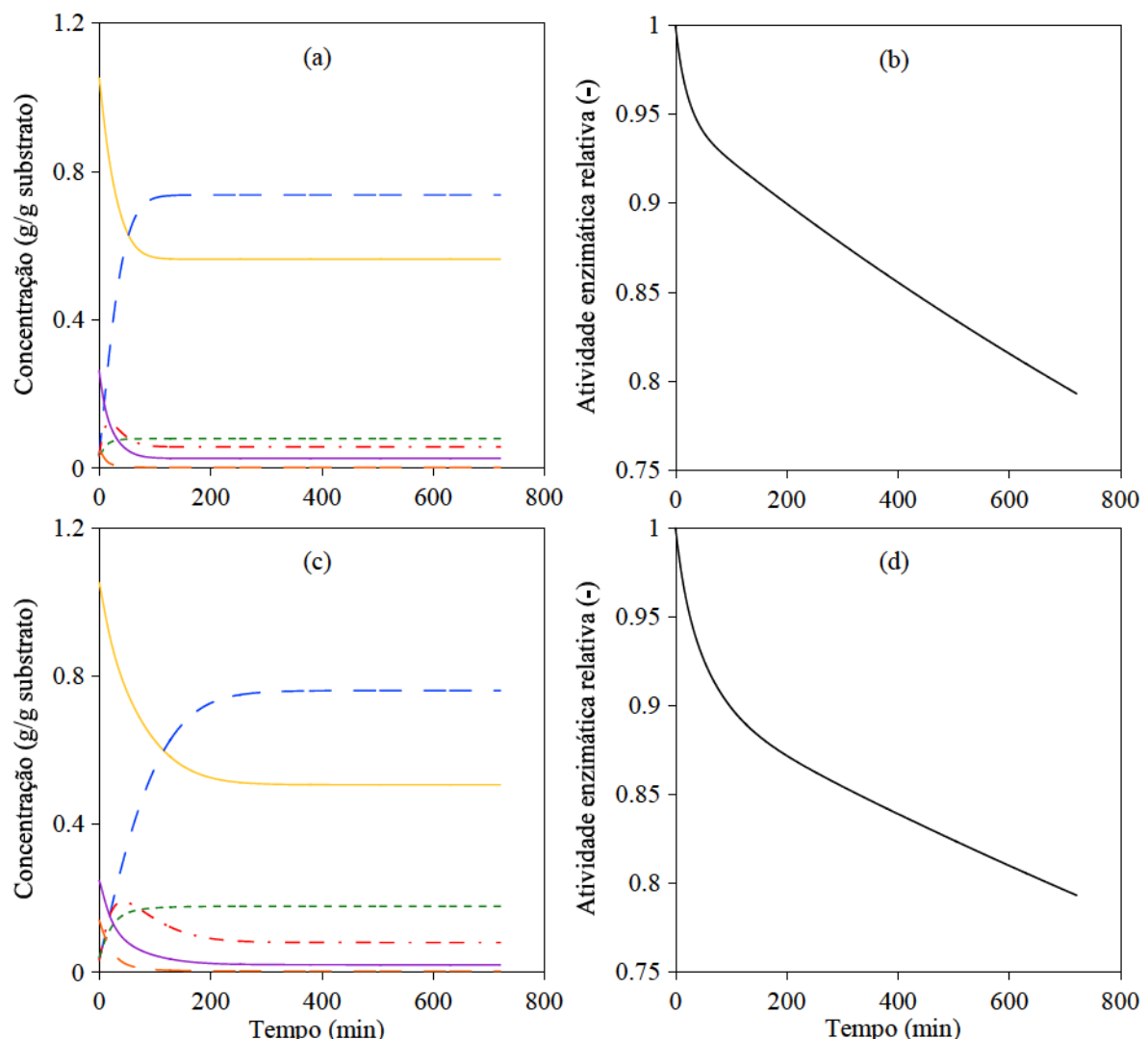


Figura 28 – Resultados das simulações bateladas (a, b) S1 e (c, d) S2 com as mesmas quantidades de mássicas de substratos e enzimas utilizadas nas respectivas corridas otimizadas dos testes O1 (corrente de entrada com 97% de G em W) e O2 (corrente de entrada com 90% de G em W). (a, c) TAG – amarelo, DAG – azul, MAG – vermelho, FFA – verde, G – roxo e W – alaranjado

Tabela 21 – Resultados das simulações dos processos de produção de DAG. Glicerólise na presença de solvente terc-butanol

	[TAG] final (g)	[DAG] final (g)	[MAG] final (g)	[FFA] final (g)	<i>a</i> remanescente
S2	0,5047	0,7609	0,0802	0,1778	0,7914
S3	0,4592	0,7394	0,0944	0,3519	0,8081
S4	0,4566	0,6755	0,0817	0,5183	0,8684
S5	0,5656	0,7323	0,0556	0,0788	0,9062

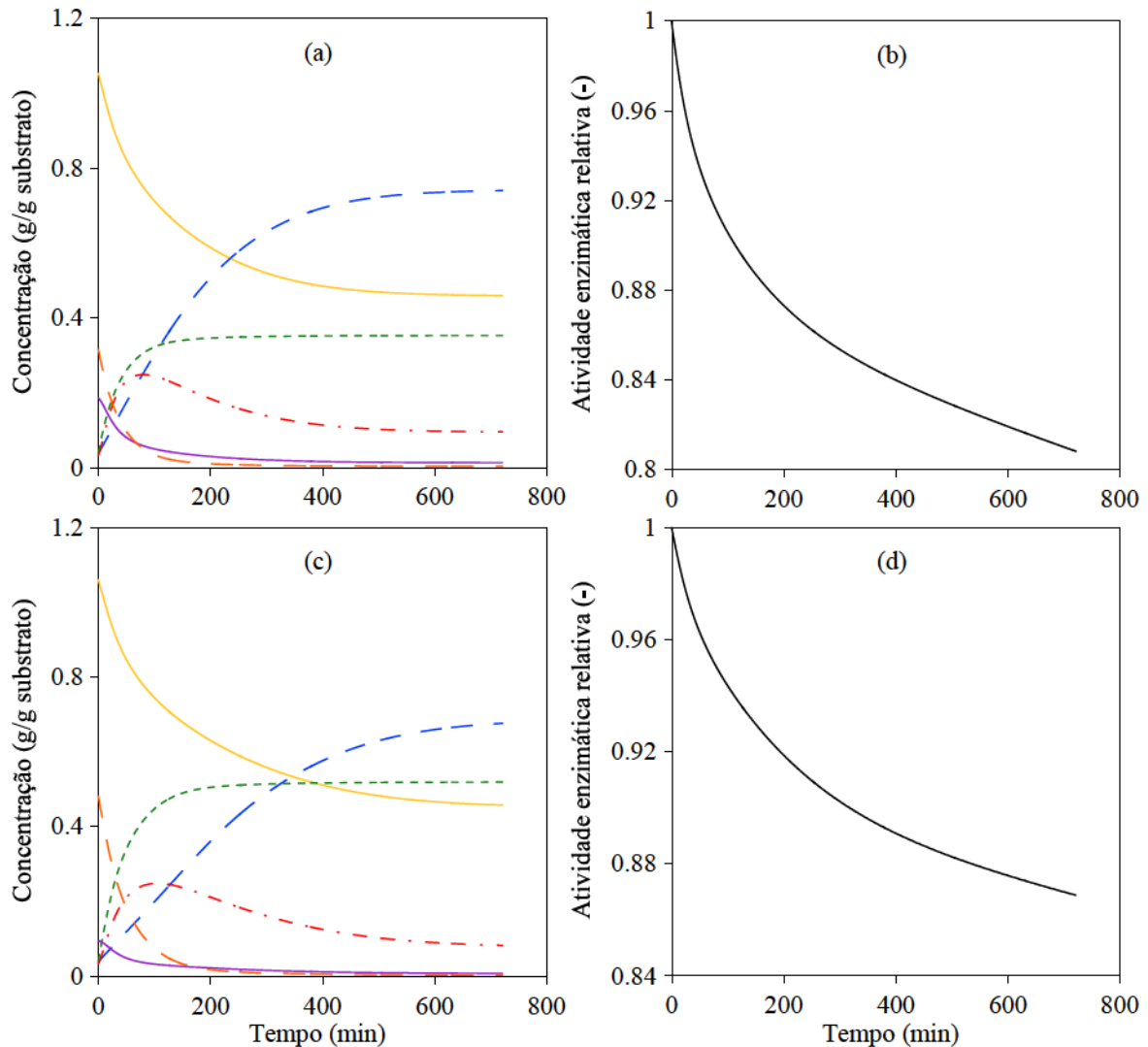


Figura 29 – Resultados das simulações bateladas (a, b) S3 e (c, d) S4 com as mesmas quantidades de mássicas de substratos e enzimas utilizadas nas respectivas corridas otimizadas dos testes O3 (corrente de entrada com 75% de G em W) e O4 (corrente de entrada com 50% de G em W). (a, c) TAG – amarelo, DAG – azul, MAG – vermelho, FFA – verde, G – roxo e W – alaranjado

Um novo teste foi realizado então, para averiguar como o controle ótimo afeta os perfis de concentrações dos componentes em um caso com um tempo de processo menor de apenas 180 min (Estudo de caso O5). Como o Estudo de caso O1 apresentou a menor quantidade de produtos indesejáveis (MAG e FFA) no final da reação, a composição da

corrente deste estudo (97% de glicerol e 3% de água) foi utilizada para este novo teste, e os resultados são apresentados na Figura 30.

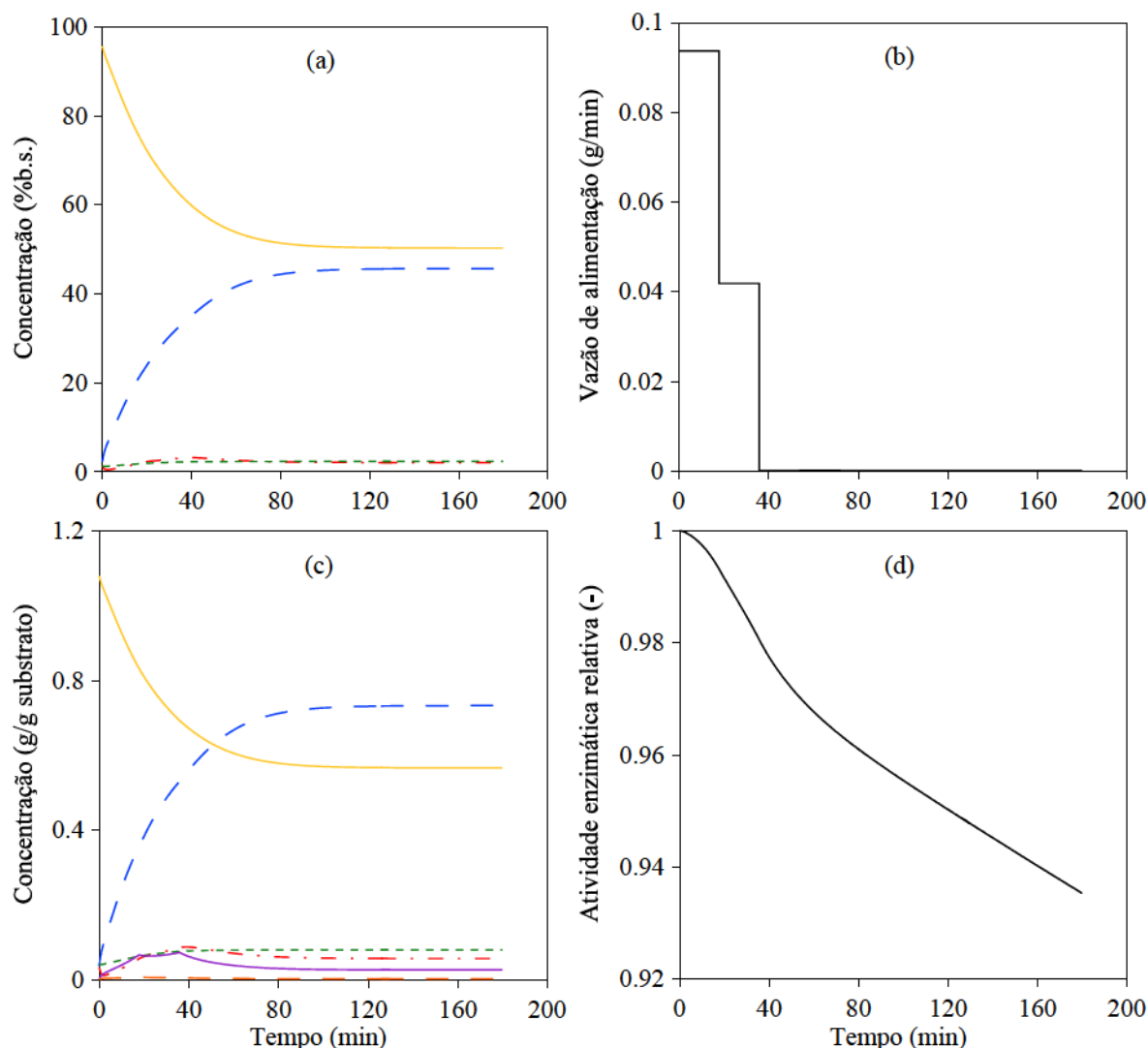


Figura 30 – Controle ótimo da glicerólise em terc-butanol para as condições do Caso O5 (corrente de entrada com 97% de G em W e tempo de processo 180 min.). (a, c) TAG – amarelo, DAG – azul, MAG – vermelho, FFA – verde, G – roxo e W – alaranjado

Como o tempo de processo não foi considerado uma variável de decisão, uma maior vazão de alimentação de substrato acabou resultando numa concentração final de DAG semelhante à obtida no Caso O1. E novamente se observa que a concentração máxima de DAG para este processo é encontrada quando a reação entra em equilíbrio e não quando a atividade enzimática acaba.

Para fins de comparação, uma reação batelada foi simulada com o tempo de 180 min (Estudo de caso S5), e os resultados são apresentados na Figura 31. Vale ressaltar que para

esta simulação, utilizou-se como dados de entrada as massas iniciais de glicerol e água equivalentes à das utilizadas no processo batelada alimentada O5.

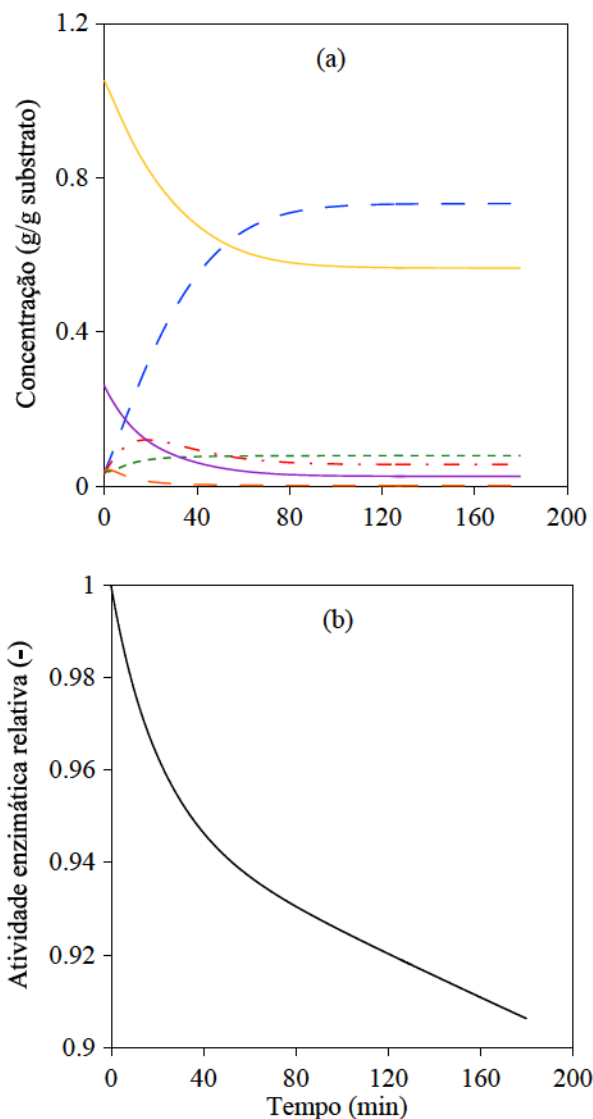


Figura 31 – Simulação da glicerólise em terc-butanol para as condições do Caso S5. (a) TAG – amarelo, DAG – azul, MAG – vermelho, FFA – verde, G – roxo e W – alaranjado

Mais uma vez, conforme esperado, a atividade enzimática remanescente no processo batelada (Figura 31 (b)) é superior ao resultante do perfil ótimo (Figura 30 (d)). Porém não se observam diferenças significativas nas concentrações finais de DAG obtidas pelo processo com alimentação controlada de substrato (Figura 30 (c)) e pelo batelada (Figura 31 (a)).

4.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Um estudo do controle ótimo da reação de glicerólise foi realizado com diferentes finalidades, incluindo a otimização da produção exclusiva de MAG, da maximização da

produção da soma dos acilgliceróis DAG e MAG e da produção exclusiva de DAG. Para a maximização das duas primeiras funções objetivo foi realizado um ajuste de parâmetros e o modelo de glicerólise foi validado para reproduzir dados da literatura para a reação em presença de n-butano e surfatante AOT. Para ambos os casos foi possível observar que a aplicação do controle ótimo da alimentação de glicerol melhora o valor da função objetivo. Os resultados também levaram a conclusão de que o processo tende a formação preferível de MAG.

Para o estudo da glicerólise em terc-butanol para a produção de DAG, no entanto, não foi possível observar diferenças significativas entre as concentrações finais dos componentes da reação (TAG, DAG, MAG e FFA) resultantes do controle ótimo da alimentação dos substratos glicerol e água e dos componentes obtidos pelo processo batelada. Isso se deve pelo fato de concentração máxima de DAG para este processo ser encontrada quando a reação entra em equilíbrio e não quando a atividade enzimática acaba. Desta forma, pequenas variações nos valores elevados de atividade enzimática em ambos os processos batelada e batelada alimentada, não resultam em diferenças significativas no rendimento final de DAG.

5 CAPÍTULO 5 – CONCLUSÃO

O algoritmo estocástico DE foi tido como método confiável para a otimização dinâmica da produção de xilitol em um processo de fermentação em sistema batelada alimentada, superado os algoritmos PSO e ABC. Sendo assim, o mesmo foi utilizado como ferramenta do controle ótimo da produção de acilgliceróis através do processo de glicerólise.

Para estudo do controle ótimo da produção de MAG, um modelo matemático de glicerólise teve primeiramente seus parâmetros ajustados para representar os dados experimentais obtidos da literatura para a reação na presença de n-butano e AOT. Uma vez ajustado o modelo, o mesmo pode ser utilizado para otimização dinâmica, a qual resultou numa produtividade de aproximadamente 27 % superior à disponível na literatura. Sendo assim, foi possível concluir que a otimização dinâmica pode ser utilizada como uma nova ferramenta para aumentar a produtividade de MAG.

Observou-se, no entanto, que a produção de DAG não foi favorecida pela alimentação controlada dos substratos glicerol e água no processo batelada alimentada em solvente orgânico terc-butanol. Por outro lado, o processo otimizado permitiu a produção de um óleo rico em DAG com menor concentração final de produtos residuais (MAG e FFA) em relação ao processo batelada disponível na literatura.

Ambos os perfis ótimos gerados, tanto para a produção de MAG como para a produção de DAG, foram comparados aos resultantes de simulações considerando processos em sistema batelada contendo quantidades mássicas iniciais de substratos e de enzima equivalentes aos consumidos e/ou utilizados pelos respectivos controles ótimos. O processo de produção de MAG em meio n-butano e AOT com alimentação controlada de glicerol foi capaz de aumentar em aproximadamente 50 % o rendimento final do produto desejado em relação ao processo batelada. Em contrapartida, não houve diferenças significativas entre as concentrações finais de DAG produzido pelo controle ótimo e pelo processo batelada. Isso se deve, pelo fato de esta reação encontrar a concentração máxima de DAG quando a reação entra em equilíbrio químico ainda em atividades enzimáticas muito elevadas. Desta maneira, pequenas variações desta atividade devido ao controle ótimo de substrato, não afetam significativamente os rendimentos do produto de interesse.

Sendo assim, com este trabalho é possível concluir que o controle ótimo da alimentação de substrato pode aumentar significativamente o produto de interesse na reação de glicerólise, quando esta tem elevada dependência da atividade enzimática e esta, por sua vez, é inibida por elevadas concentrações de substrato.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Este capítulo tem a finalidade de apresentar algumas propostas de trabalhos que dão continuidade aos estudos apresentados nesta tese; sendo estas:

- Análise da otimização multiobjetivo da produção de xilitol, considerando-se simultaneamente a maximização de ambas produtividade e rendimento;
- Realização de experimentos laboratoriais nas condições otimizadas de processo de produção de xilitol propostas neste trabalho;
- Realização de experimentos de glicerólise em operação batelada alimentada em *scale-up*.

REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE, T. L. DE; SILVA JR., I. J. DA; MACEDO, G. R. DE; ROCHA, M. V. P. Biotechnological production of xylitol from lignocellulosic wastes: A review. **Process Biochemistry**, v. 49, n. 11, p. 1779-1789, 2014.
- ALAGESAN, S.; GAUDANA, S. B.; KRISHNAKUMAR, S.; WANGIKAR, P. P. Model based optimization of high cell density cultivation of nitrogen-fixing cyanobacteria. **Bioresource Technology**, v.148, p.228-233, 2013.
- ANDRES-TORO, B.; GIRON-SIERRA, J. M.; FERNÁNDEZ-BLANCO, E.; LOPEZ-OROZCO, J. A.; BESADA-PORTAS, E. Multiobjective optimization and multivariable control of the beer fermentation process with the use of evolutionary algorithms. **Journal of Zhejiang University Science**, v. 5, n. 4, p. 378-389, 2004.
- ASHINO, R.; NAGASE, M.; VAILLANCOURT, R. Behind and beyond the Matlab ODE suite. **Computers & Mathematics with Applications**, v. 40, n. 4-5, p. 491-512, 2000.
- AHLERS, F. J.; CARLO, W. di; FLEINER, C.; GODWIN, L.; KEENAN, M.; NATH, R. D.; NEUMAIER, A.; PHILLIPS, J. R.; PRICE, K.; STORN, R.; TURNEY, P.; WANG, F.-S.; ZANDT, J. V.; GELDON, H.; GAUDEN, P. A.; BRAUER, C.; SHIVARAM, K. R.; NOVIKOV, D. (1997). Differential Evolution (DE) for Continuous Function Optimization (an algorithm by Kenneth Price and Rainer Storn). Disponível em: <http://www1.icsi.berkeley.edu/~storn/code.html#matl>. Acesso em: 15/02/2016.
- BONILLA-PETRICIOLET, A.; RANGAIAH, G. P.; SEGOVIA-HERNÁNDEZ, J. G. Evaluation of stochastic global optimization methods for modeling vapor-liquid equilibrium data. **Fluid Phase Equilibria**, v. 287, n. 2, p. 111-125, 2010.
- BORNSCHEUER, U. T. Lipase-catalyzed syntheses of monoacylglycerols. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 17, p. 578-586, 1995.
- BOND, M.; DUNNING, N. Xylitol. In: ed. Mitchell H. **Sweeteners and Sugar Alternatives in Food Technology**. Wiley, 2008.
- CARAMIHAI M., CHIRVASE A., FONTEIX C., MARC I., FOURNIER F., MISLEANU R., UNGUREANU C. Optimal fed-batch bioprocess control. An Advanced Approach. **Computer Aided Chemical Engineering**, v. 24, p. 787-792, 2007.
- CARRASCO, E. F.; BANGA, J. R. Dynamic optimization of batch reactors using adaptive stochastic algorithms. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 36, n. 6, p. 2252-2261, 1997.

CARRILLO-URETA, G. E.; ROBERTS, P. D.; BECERRA, V. M. Genetic algorithms for optimal control of beer fermentation. **Anais IEEE International Symposium on Intelligent Control**, p.391-396, 2001.

CHEIRSILP, B.; KAEWTHONG, W.; H-KITTIKUN, A. Kinetic study of glycerolysis of palm olein for monoacylglycerol production by immobilized lipase. **Biochemical Engineering Journal**, v. 35, p. 71-80, 2007.

CHEN, L.; BASTIN, G.; VAN BREUSEGEM, V. A Case Study of Adaptive Nonlinear Regulation of Fed-batch Biological Reactors. **Automatica**, v. 31, n. 1, p. 55-65, 1995.

CHEN, X.; JIANG, Z.-H.; CHEN, S.; QIN, W. Microbial and bioconversion production of D-xylitol and its detection and application. **International Journal of Biological Sciences**, v. 6, n. 7, p. 834-844, 2010.

D'ALONZO, R. P.; KOZAREK, W. J.; WADE, R. L. Glyceride Composition of Processed Fats and Oils As Determined by Glass Capillary Gas Chromatography. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 59, n. 7, p. 292-295, 1982.

DAMPSTRUP, M. L.; ABILDSKOV, J.; KIIL, S.; JENSEN, A. D.; SPARSO, F. V.; XU, X. Evaluation of binary solvent mixtures for efficient monoacylglycerol production by continuous enzymatic glycerolysis. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 19, p. 7113-7119, 2006.

DESTAILLATS, F.; CRUZ-HERNANDEZ, C.; NAGY, K.; DIONISI, F. Identification of monoacylglycerol regio-isomers by gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 9, p. 1543-1548, 2010.

EBERHART, R.; KENNEDY, J. A new optimizer using particle swarm theory. **Anais Sixth International Symposium on Micro Machine and Human Science**, 1995. p. 39-43.

EBERHART, R. C.; SHI, Y. (2011). **Computational Intelligence: Concepts to Implementations**. Elsevier, 2011.

ERDOĞDU, F.; BALABAN, M. O. Nonlinear constrained optimization of thermal processing: I. Development of a modified algorithm of complex method. **Journal of Food Process Engineering**, v. 25, p. 1-22, 2002.

FOGLER, H. S. **Elementos de Engenharia das Reações Químicas**. 3 ed. Rio de Janeiro: Editora LTC, 2002. 890 p.

FOOD STANDARDS AUSTRALIA NEW ZEALAND (FSANZ). **Application A505. Diacylglycerol Oil**. 2004/ Mar. 17. Draft assessment report. Disponível em: <
http://www.foodstandards.gov.au/code/applications/Documents/A505_Dag_oil_DAR.pdf>. Acesso em: Jan. 06, 2017.

FUREBY, A. M.; TIAN, L.; ADLERCREUTZ, P.; MATTIASSON, B. Preparation of diglycerides by lipase-catalyzed alcoholysis of triglycerides. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 20, p. 196-206, 1997.

GEERING, H. P. **Optimal Control with Engineering Applications**. Berlin: Springer, 2007.

GUO, Z.; XU, X. Lipase-catalyzed glycerolysis of fats and oils in ionic liquids: a further study on the reaction system. **Green Chemistry**, v. 8, n. 1, p. 54-62, 2006.

HAFIDI, G.; TEBBANI, S.; DUMUR, D.; VANDE WOUWER, A. Nonlinear Model Predictive Control applied to E. Coli Cultures. In: World Congress The International Federation of Automatic Control, 17., 2008, Seoul. **Anais**. Seoul. p. 14570-14575.

HOLY BIBLE, N. T. Philippians. In HOLY BIBLE. Portuguese-English. Holy Bible New International Version. São Paulo: Editora Vida, 2003. p. 1320.

HUNAG, W.-H.; SHIEH, G. S.; WANG, F.-S. Optimization of fed-batch fermentation using mixture of sugars to produce ethanol. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 43, n. 1, p. 1-8, 2012.

JACKSON, M. A.; KING, J. W. Lipase-catalyzed glycerolysis of soybean oil in supercritical carbon dioxide. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 74, n. 2, p. 103-106, 1997.

JIMÉNEZ-HORNERO, J. E.; SANTOS-DUEÑAS, I. M.; GARCÍA-GARCÍA, I. Optimization of biotechnological processes. The acetic acid fermentation. Part III: Dynamic optimization. **Biochemical Engineering Journal**, v. 45, n. 1, p.22-29, 2009.

JIN, H.; CHEN, X.; YANG, J.; WU, L.; WANG, L. Hybrid intelligent control of substrate feeding for industrial fed-batch chlortetracycline fermentation process. **ISA Transactions**, v. 53, n.6, p. 1822-1837, 2014.

KAO CORPORATION. **GRAS Status of DAG**. 2000. Disponível em: <<http://www.fda.gov/downloads/Food/IngredientsPackagingLabeling/GRAS/NoticeInventory/UCM266329>>. Acesso em: 06/01/2017.

KAPADI, M. D.; GUDI R. D. Optimal control of fed-batch fermentation involving multiple feeds using Differential Evolution. **Process Biochemistry**, v. 39, n. 11, p. 1709-1721, 2004.

KARABOGA, D. **An idea based on honeybee swarm for numerical optimization**. Erciyes University, 2005. Relatório técnico – TR06.

KARABOGA, D.; AKAY, B. A comparative study of artificial bee colony algorithm. **Applied Mathematics and Computation**, v. 214, p. 108-132, 2009.

KARABOGA, D.; BASTURK, B. A powerful and efficient algorithm for numerical function optimization: artificial bee colony (ABC) algorithm. **Journal of Global Optimization**, v. 39, n. 3, p. 459-471, 2007.

KARABOGA, D.; BASTURK, B. On the performance of artificial bee colony (ABC) algorithm. **Applied Soft Computing**, v. 8, n. 1, p. 687-697, 2008.

KARABOGA, D.; OZTURK, C. A novel clustering approach: artificial bee colony (ABC) algorithm. **Applied Soft Computing**, v. 11, p. 652-657, 2011.

KENNEDY, J. The particle swarm: social adaptation of knowledge. **Anais IEEE International Conference on Evolutionary Computation**, p.303-308, 1997.

KENNEDY, J.; EBERHARD, R. Particle swarm optimization. **Anais IEEE International Conference on Neural Networks**, v. 4, 1995. p. 1942-1948.

LAZZUS, J. A. Optimization of activity coefficient models to describe vapor-liquid equilibrium of (alcohol+water) mixtures using a particle swarm algorithm. **Computers & Mathematics with Applications**, v. 60, n. 8, p. 2260-2269, 2010.

LEE, F. C.; RANGAIAH, G. P.; RAY, A. K. Multi-objective optimization of an industrial penicillin v bioreactor train using non-dominated sorting genetic algorithm. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 98, n. 3, p. 586-598, 2007.

LIM, H. C.; SHIN, H. S. **Fed-Batch Cultures: Principles and Applications of Semi-Batch Bioreactors**. Cambridge University Press, 2013.

LIU, C.; GONG, Z.; SHEN, B.; FENG, E. Modelling and optimal control for a fed-batch fermentation process. **Applied Mathematical Modelling**, v. 37, n. 3, p. 695-706, 2013.

LIU, P.; LI, G.; LIU, X. Fast engineering optimization: A novel highly effective control parameterization approach for industrial dynamic processes. **ISA Transactions**, v. 58, p. 248-254, 2015.

LO, S.-K.; TAN, C.-P.; LONG, K.; YUSOFF, M. S. A.; LAI, O.-M. Diacylglycerol Oil—Properties, Processes and Products: A Review. **Food and Bioprocess Technology**, v. 1, p. 223-233, 2008.

LONG, N. V. **Optimal Control Theory**. International Encyclopedia of the Social & Behavioral Sciences, 2 ed., p. 253-255, 2015.

MAKI, K. C. ; DAVIDSON, M. H.; TSUSHIMA, R.; MATSUO, N.; TOKIMITSU, I.; UMPOROWICZ, D. M.; DICKLIN, M. R.; FOSTER, G. S.; INGRAM, K. A.; ANDERSON, B. D.; FROST, S. D.; BELL, M. Consumption of diacylglycerol oil as part of a reduced-energy diet enhances loss of body weight and fat in comparison with consumption of a

triacylglycerol control oil. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 76, n. 6, p. 1230-1236, 2002.

MARANGONI, A. G. **Enzyme Kinetics – A modern approach**. New Jersey: John Wiley & Sons, 2003. p. 90-101.

MATHWORKS INC. MATLAB 6.1, The MathWorks Inc., 2000.

MEFFERT, A. Technical Uses of Fatty Acid Esters. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 61, p. 255-258, 1984.

MILLS, V.; MCCLAIN, H. K. Fat Hydrolysis. **Industrial and Engineering Chemistry**, v. 41, n.9, p. 1982-1985, 1949.

MINIHANE, B. J.; BROWN, D. E. Fed-batch Culture Technology. **Biotechnology Advances**, v. 4, p. 207-218, 1986.

MOLER, C. Stiff Differential Equation. 2003. Disponível em:
<<https://www.mathworks.com/company/newsletters/articles/stiff-differential-equations.html>>.
Acesso em: 08/01/2018.

MOQUIN, P. H. L.; TEMELLI, F.; SOVOVA, H.; SALDANA, M. D. A. Kinetic modeling of glycerolysis–hydrolysis of canola oil in supercritical carbon dioxide media using equilibrium data. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 37, p. 417–424, 2006.

MOQUIN, P. H. L.; TEMELLI, F. Kinetic modeling of hydrolysis of canola oil in supercritical media. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 45, p. 94-101, 2008.

MUÑOZ-TAMAYO, R.; ACEVES-LARA, C.-A.; BIDEAUX, C. Optimization of lipid production by oleaginous yeast in continuous culture. In: World Congress The International Federation of Automatic Control Cape Town, 19., 2014, Africa do Sul. **Anais**. Africa do Sul: CTICC. p. 6210-6215.

MYRIE, S. B.; JONES, P. J. H. Functional Foods and Obesity. In.: SAARELA, M. (Ed.). **Functional Foods: Concept to Product**. 2 ed. Cambridge: Woodhead Publishing Limited, 2011. p. 234-260.

NAGAO, T.; WATANABE, H.; GOTO, N.; ONIZAWA, K.; TAGUCHI, H.; MATSUO, N.; YASUKAWA, T.; TSUSHIMA, R.; SHIMASAKI, H.; ITAKURA, H. Dietary Diacylglycerol Suppresses Accumulation of Body Fat Compared to Triacylglycerol in Men in a Double-Blind Controlled Trial. **Journal of Nutrition**, v. 130, n. 4, p. 792-797, 2000.

NAKAJIMA, Y. Water-Retaining Ability of Diacylglycerol. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 81, n. 10, p. 907-912, 2004.

NOW REAL FOOD. Xylitol. Bloomingdale, [2018]. 1 embalagem.

OONSIVILAI, R.; OONSIVILAI, A. Differential Evolution Application in Temperature Profile of Fermenting Process. **WSEAS Transactions on Systems**, v. 9, n. 6, p. 618-628, 2010.

PARK, S.; RAMIREZ, W. F. Optimal production of secreted protein in fed- batch reactors. **American Institute of Chemical Engineers**, v. 34, n. 9, 1988.

PAWONGRAT, R.; XU, X.; H-KITTIKUN, A. Synthesis of monoacylglycerol rich in polyunsaturated fatty acids from tuna oil with immobilized lipase AK. **Food Chemistry**, v. 104, n. 1, p. 251-258, 2007.

PÉREZ-CORREA, J. R.; GELIMI, C. A.; BIEGLER, L. T. Dynamic Optimization. In.: ERDOĞDU, F. **Optimization in Food Engineering**. Boca Raton: CRC Press, 2009.
PHUAH, E.-T.; LAI, O.-M.; CHOONG, T. S.-Y.; TAN, C.-P.; LO, S.-K. Kinetic study on partial hydrolysis of palm oil catalyzed by *Rhizomucor miehei* lipase. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 78, p. 91-97, 2012.

PHUAH, E.-T.; TANG, T.-K.; LEE, Y.-Y.; CHOONG, T. S.-Y.; TAN, C.-P.; LAI, O.-M. Review on the Current State of Diacylglycerol Production Using Enzymatic Approach. **Food and Bioprocess Technology**, vol. 8, iss. 6, pp. 1169-1186, 2015.

RANGAIAH, G. P. Introduction. In.: RAGGAIAH, G. P. **Stochastic Global Optimization. Techniques and Applications in Chemical Engineering**. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., 2010.

RAO, S. S. **Engineering Optimization. Theory and Practice**. 3 ed. John Wiley & Sons, 1996.

ROCHA, M.; MENDES, R.; ROCHA, O.; ROCHA, I.; FERREIRA, E. C. Optimization of fed-batch fermentation processes with bio-inspired algorithms. **Expert Systems with Applications**, v. 41, n. 5, p. 2186-2195, 2014.

RODMAN, A. D.; GEROGIORGIS, D. I. Multi-objective process optimisation of beer fermentation via dynamic simulation. **Food and Bioproducts Processing**, v. 100, part A, p. 255-274, 2016.

RÓMOLI, S.; SERRANO, M. E.; ORTIZ, O. A.; VEJA, J. R.; SCAGLIA, G. J. E. Tracking control of concentration profiles in a fed-batch bioreactor using a linear algebra methodology. **ISA Transactions**, v. 57, p. 162-171, 2015.

ROUBOS, J. A.; VAN STRATEN, G.; VAN BOXTEL, A. J. B. An evolutionary strategy for fed-batch bioreactor optimization; concepts and performance. **Journal of Biotechnology**, v. 67, n. 2-3, p. 173-187, 1999.

SAFFARI, H.; SADEGHI, S.; KHOSHZAT, M.; MEHREGAN, P. Thermodynamic analysis and optimization of a geothermal Kalina cycle system using Artificial Bee Colony algorithm. **Renewable Energy**, v. 89, p. 154-167, 2016.

SARKAR D.; MODAK, J. M. ANNSA: a hybrid artificial neural network/simulated annealing algorithm for optimal control problems. **Chemical Engineering Science**, v. 58, n. 14, p. 3131-3142, 2003.

SARKAR D.; MODAK, J. M. Optimization of fed-batch bioreactors using genetic algorithm: multiple control variables. **Computers & Chemical Engineering**, v. 28, n.5, p. 789-798, 2004.

SARKER, R. A.; NEWTON, C. S. **Optimization Modelling. A Practical Approach**. Boca Raton: CRC Press, 2008.

SATRIANA; ARPI, N.; LUBIS, Y. M.; ADISALAMUN; SUPARDAN, M. D. AND MUSTAPHA, W. A. W. Diacylglycerol-enriched oil production using chemical glycerolysis. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 118, n. 12, p. 1880-1890, 2016.

SCHLEGEL, M.; STOCKMANN, K.; BINDER, T.; MARQUARDT, W. Dynamic optimization using adaptive control vector parameterization. **Computers & Chemical Engineering**, v. 29, n. 8, p. 1731-1751, 2005.

SHAOQIANG, C.; RANGAIAH, G. P.; SRINIVAS, M. Differential evolution: method, developments and chemical engineering applications. In.: RAGGAIAH, G. P. **Stochastic Global Optimization. Techniques and Applications in Chemical Engineering**. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., 2010.

SHI, Y.; EBERHARD, R. C. Empirical study of particle swarm optimization. **Anais Congress on Evolutionary Computation**, v. 3, p. 1945-1950, 1999.

SIRISANSANEYAKUL, S.; STANISZEWSKI, M.; RIZZI, M. Screening of yeasts for production of xylitol from d-xylose. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 80, n. 6, p. 565-570, 1995.

SOLAESA, A. G.; SANZ, M. T.; BELTRÁN, S.; MELGOSA, R. Kinetic study and kinetic parameters of lipase-catalyzed glycerolysis of sardine oil in a homogeneous medium. **Chinese Journal of Catalysis**, v. 37, n. 4, p. 596-606, 2016.

SONNTAG, N. O. V. Glycerolysis of Fats and Methyl Esters: Status, Review, and Critique. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 59, n. 10, p. 795A-802A, 1982.

STORN, R.; PRICE, K. **Differential Evolution — A Simple and Efficient Heuristic for Global Optimization over Continuous Spaces**. *Journal of Global Optimization*, v. 11, n. 4, p. 341-359, 1997.

SCHWAAB, M.; BISCAIA, JR. E. C.; MONTEIRO, J. L.; PINTO, J. C. Nonlinear parameter estimation through particle swarm optimization. **Chemical Engineering Science**, v. 63, n. 6, p. 1542-1552, 2008.

TAN, T.; YIN, C. The mechanism and kinetic model for glycerolysis by 1,3 position specific lipase from *Rhizopus arrhizus*. **Biochemical Engineering Journal**, vol. 25, iss. 1, pp. 39-45, Aug. 2005.

TOCHAMPA, W.; SIRISANSANEYAKUL, S.; VANICHSRIRATANA, W.; SRINOPHAKUN, P.; BAKKER, H. H. C.; CHISTI, Y. A model of xylitol production by the yeast *Candida Mogii*. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 28, n. 3, p 175-183, 2005.

TOCHAMPA, W.; SIRISANSANEYAKUL, S.; VANICHSRIRATANA, W.; SRINOPHAKUN, P.; BAKKER, H. H. C.; WANNAWILAI, S.; CHISTI, Y. Optimal control of feeding in fed-batch production of xylitol. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 54, v. 7, p. 1992-2000, 2015.

TÜTER, M.; AKSOY, H. A. Solvent-free glycerolysis of palm and palm kernel oils catalyzed by commercial 1,3-specific lipase from *Humicola lanuginosa* and composition of glycerolysis products. **Biotechnology Letters**, v. 22,n. 1, p. 31-34, 2000.

VALÉRIO, A.; FIAMETTI, K. G.; ROVANI, S.; FRANCESCHI, E.; CORAZZA, M. L.; TREICHEL, H.; de OLIVEIRA, D.; OLIVEIRA, J. V. Enzymatic production of mono- and diglycerides in compressed n-butane and AOT surfactant. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 49, n. 2, p. 216-220, 2009a.

VALÉRIO, A.; KRÜGER, R. L.; NINOW, J.; CORAZZA, F. C.; OLIVEIRA, D. de; OLIVEIRA, J. V.; CORAZZA, M. L. Kinetics of Solvent-Free Lipase-Catalyzed Glycerolysis of Olive Oil in Surfactant System. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 57, iss. 18, pp. 8350-8356, 2009b.

VOLL, F.; KRÜGER, R. L.; CASTILHOS, F. de; CARDOZO FILHO, L.; CABRAL, V.; NINOW, J.; CORAZZA, M. L. Kinetic modeling of lipase-catalyzed glycerolysis of olive oil. **Biochemical Engineering Journal**, v. 56, n. 3, p. 107-115, 2011.

WATANABE, H.; NAGAO, T.; GOTO, N.; FUKUSHIMA, Y.; ONIZAWA, K.; TAGUCHI, H.; OHMACHI, T.; YASUKAWA, T.; NAITO, S.; SHIMASAKI, H.; ITAKURA, H. Long-Term Effects of Dietary Diacylglycerols on Body Fat Metabolism in Man. **Journal of Japan Oil Chemists' Society**, v. 47, n. 4, p. 369-376, 1998.

WATANABE, T.; SHIMIZU, M.; SUGIURA, M.; SATO, M.; KOHORI, J.; YAMADA, N.; NAKANISHI, K. Optimization of reaction conditions for the production of DAG using immobilized 1,3-regiospecific lipase Lipozyme RM IM. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 80, p. 1201-1207, 2003.

WEBER, N.; MUKHERJEE, K. D. Solvent-free lipase-catalyzed preparation of diacylglycerols. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 17, p. 5347-5353, 2004.

WINKELHAUSEN, E.; KUZMANOVA, S. Microbial conversion of D-xylose to xylitol. **Journal of Fermentation and Bioengineering**, v. 86, n. 1, p. 1-14, 1998.

XIAO J.; ZHOU Z.-K.; ZHANG G.-X. Ant colony system algorithm for the optimization of beer fermentation control. **Journal of Zhejiang University-Science A**, v. 5, n. 12, p. 1597-1603, 2004.

YÜZGEÇ, U. Performance comparison of differential evolution techniques on optimization of feeding profile for an industrial scale baker's yeast fermentation process. **ISA Transactions**, v. 49, n. 1, p. 167-176, 2010.

YÜZGEÇ, U.; BECERIKLI, Y.; TÜRKER, M. Nonlinear predictive control of a drying process using genetic algorithms. **ISA Transactions**, v. 45, n. 4, p. 589-602, 2006.

YÜZGEÇ, U.; TÜRKER, M.; HOCALAR, A. On-line evolutionary optimization of an industrial fed-batch yeast fermentation process. **ISA Transactions**, v. 45, n. 1, p. 79-92, 2009.